

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
HOUCEM HAMMADI

ÉTUDE DE L'ASPECT DYNAMIQUE DE LA PHOTOSYNTHÈSE PAR
L'ANALYSE DES OSCILLATIONS COMPLEXES DE LA FLUORESCENCE
CHLOROPHYLLIENNE INDUITES SOUS LUMIÈRES SINUSOÏDALES

NOVEMBRE 2013

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire, je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette maîtrise. Je tiens à remercier le professeur Guy Samson, directeur de mémoire, qui s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer, et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Mes sincères remerciements s'adressent à la professeure Esther Lévesque pour ses encouragements et ses conseils. Je tiens aussi à remercier toute l'équipe du laboratoire de biophysique (Jemaa, Imed, Saber et Hnia) sous la direction du professeur Robert Carpentier pour leur appui et de leurs conseils. J'exprime ma gratitude à tous les consultants et internautes rencontrés lors des recherches effectuées et qui ont accepté de répondre à mes questions avec gentillesse. Je n'oublie pas mes parents et ma sœur pour leur contribution, leur soutien et leur patience. Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire. Merci à tous et à toutes.

RÉSUMÉ

Problématique et objectif principal

En milieux naturels, les végétaux sont exposés à de rapides et larges variations de l'intensité lumineuses. Cependant, notre compréhension de la relation entre la photosynthèse et l'intensité lumineuse se limite surtout à des changements de lumière relativement lents (minutes, heures...), jusqu'à l'atteinte des nouvelles conditions d'équilibre (steady-state). Pourtant, plusieurs études ont démontré que pour des intensités lumineuses équivalentes, l'efficacité photosynthétique sous lumière dynamique est généralement inférieure à celle observée sous lumière constante. Ces conclusions importantes demeurent cependant peu répandues dans la communauté scientifique et demandent à être approfondies. Pour maintenir leur performance sous lumières dynamiques, les végétaux doivent, d'une part, trouver un compromis entre le maintien de leur efficacité photochimique et la présence de mécanismes efficaces de photoprotection minimisant les risques de photoinhibition causée par des intensités lumineuses excessives, et d'autre part, assurer la complémentarité entre les réactions photochimiques et biochimiques de la photosynthèse.

Dans ce contexte, ce projet de maîtrise a été réalisé afin de mieux comprendre les facteurs déterminant l'efficacité photosynthétique sous lumière dynamique, plus précisément sous lumière sinusoïdale. Plus spécifiquement, ce projet se divise en deux parties. Premièrement, j'ai tenté de démontrer la présence ou non d'une relation entre l'efficacité photosynthétique (assimilation du CO_2) avec les oscillations complexes de la fluorescence chlorophyllienne (FChl) induites par une lumière sinusoïdale (amplitude de $1000 \mu\text{moles photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et période de 120 s.), et ce pour a) trois espèces (tournesol, fève et haricot), b) deux conditions de croissance (intérieur et extérieur), c) en fonction du temps (0-90 min) lors de l'induction photosynthétique et d) en fonction de la température (que chez le tournesol). Dans la deuxième partie de ce projet, les efficacités d'assimilation de CO_2 ont été mesurées chez le tournesol sous des lumières sinusoïdales en fonction de la période (de 5 à 240 s) et en fonction de l'amplitude (intensités lumineuses moyennes allant de 18 à $1110 \mu\text{moles photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de la lumière sinusoïdale.

Méthodologie

Les expérimentations ont été menées sur des feuilles de trois espèces, le haricot (*Phaseolus vulgaris*), la fève (*Vicia faba*) et le tournesol (*Helianthus annuus*), cultivées sous deux conditions de croissance, soit à l'intérieur (chambre de croissance, lumière diurne constante 16 h de $300 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et à l'extérieur dans des conditions de plein soleil et d'ombre dans une proportion d'environ 25 % et 75 %. Dans une première série d'expériences, les feuilles ont été exposées à une lumière sinusoïdale oscillant entre 18 et $1110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ avec une période de 120 s pendant 90 minutes. À la fin de cette période, les feuilles ont été soumises à une lumière continue d'une intensité équivalente

à celle de la lumière sinusoïdale ($545 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). La fluorescence chlorophyllienne (FChl) et le taux d'assimilation de CO_2 ont été mesurés simultanément. Les patrons de fluorescence mesurés présentent des oscillations complexes qui sont la somme d'une composante principale (CP) de même période que la lumière incidente ainsi que plusieurs harmoniques (H_i) (résonances), dont les périodes sont des fractions décroissantes ($1/2, 1/3, 1/4 \dots$) de la période de la CP. Les amplitudes et les périodes des CP et harmoniques ont été estimées suite à la déconvolution des patrons de fluorescence par la méthode de transformée rapide de Fourier en utilisant le logiciel Matlab. Pour certaines de ces mesures, des feuilles de tournesol (*Helianthus annuus*) cultivées en chambre de croissance ont été exposées à la même lumière sinusoïdale (même période et même amplitude) pendant 20 min suivies d'une lumière continue d'intensité équivalente comme précédemment, mais sous trois différentes températures : 10°C , 25°C et 40°C . En parallèle, la FChl et le taux de photosynthèse ont été mesurés.

Enfin, dans la deuxième partie du projet, des feuilles de tournesol cultivées en chambre de croissance ont été soumises à différentes lumières sinusoïdales (différentes périodes et amplitudes) et aussi à une lumière continue d'intensité équivalente à la lumière sinusoïdale afin de construire des courbes de saturation lumineuse dans des conditions dynamiques et d'équilibre.

Résultats

Les résultats de la première expérience montrent tout d'abord que pour les trois espèces exposées à une même lumière sinusoïdale, les patrons de fluorescence des plantes cultivées à l'extérieur démontrent plus de résonnance que ceux de plantes d'intérieur. En effet, les patrons de fluorescence de plants d'extérieurs ont une plus faible amplitude de la CP et globalement, de plus fortes amplitudes des harmoniques que chez les plantes d'intérieur. Par conséquent, les ratios des amplitudes $\frac{\sum H_i}{CP}$ sont plus élevés chez les plantes de l'extérieur que chez celles de l'intérieur. Une autre observation intéressante chez toutes les espèces (sauf la fève d'intérieur) est le décalage de 36 s entre le maximum de l'intensité lumineuse avec les maximums et minimums respectivement des rendements quantiques de la dissipation régulée de l'énergie (YNPQ) et des réactions photochimiques du photosystème II (YII). Malgré les différences significatives dans les patrons de fluorescence, toutes les espèces (plantes d'extérieur et d'intérieur) ont montré la même perte d'efficacité photosynthétique (ΦCO_2) mesurée sous lumière sinusoïdale relative à celle sous lumière continue, soit une perte d'environ 21 %.

Toujours dans le but d'établir un lien possible entre les patrons complexes de fluorescence et l'activité photosynthétique globale (assimilation de CO_2), les amplitudes des composantes principales et des harmoniques ont été mesurées en fonction du taux d'assimilation de CO_2 lors de l'induction de la photosynthèse. En accord avec les résultats précédents, les amplitudes des CP diminuent significativement lors de l'induction chez les plantes d'extérieur et non pas chez les plantes d'intérieur. Il y a donc une relation inverse entre les amplitudes des CP et les taux d'assimilation de CO_2 au cours de l'induction photosynthétique, du moins chez les plantes d'extérieur. Quant à la somme des harmoniques, aucune tendance claire n'a cependant pu être détectée.

Finalement pour cette première partie du mémoire, les effets des températures non optimales sur les patrons complexes de fluorescence et sur les taux de photosynthèse ont été comparés. Tel qu'attendu, par rapport aux conditions normales (25 °C), les taux d'assimilation étaient modérément et fortement plus faibles à 10 °C et 40 °C respectivement. Une diminution de la température a causé une hausse des amplitudes de CP tandis qu'à 40 °C, une baisse de l'amplitude des harmoniques a été notée. Il en résulte donc que le taux d'assimilation de CO₂ le plus élevé (25 °C) correspondait au ratio $\frac{\Sigma H}{CP}$ le plus élevé.

Pour la deuxième partie de ce mémoire, les résultats ont montré que pour une même intensité lumineuse moyenne, le taux d'assimilation de CO₂ diminue lorsque la période augmente. Toutefois, cette relation inverse dépend aussi de l'amplitude de la lumière sinusoïdale : à de faibles amplitudes (faibles intensités lumineuses moyennes), il n'y a pas ou peu d'effet de la période sur l'efficacité d'assimilation de CO₂. La perte d'efficacité photosynthétique sous lumières sinusoïdales s'observe donc lorsque les périodes et les amplitudes sont importantes.

Conclusions

Considérant a) les plus faibles amplitudes de la composante principale (CP) chez les plantes d'extérieur comparées à celles des plantes d'intérieur, b) la baisse de l'amplitude de la CP au cours de l'induction de la photosynthèse et c) la hausse de l'amplitude de la CP lorsque la température diminue, et d) la similitude entre la période de la CP et celle de la lumière sinusoïdale incidente, nous pouvons donc suggérer que la CP correspond à la fermeture des centres réactionnels du photosystème II (PSII).

Considérant les plus fortes amplitudes des harmoniques chez les plantes d'extérieur comparées à celles des plantes d'intérieur, nos résultats supportent les observations de Bonin et al. (en préparation) selon lesquelles ces harmoniques correspondent à la présence de mécanismes de dissipation régulée de l'énergie absorbée (YNPQ).

Sous nos conditions expérimentales, la lumière sinusoïdale est moins bien utilisée que la lumière continue pour l'assimilation de CO₂, même pour les plantes d'extérieur acclimatées à la lumière naturelle (dynamique).

Nos différentes expériences n'ont pu mettre en évidence un possible lien entre les oscillations complexes de fluorescence sous lumière sinusoïdale avec l'assimilation de CO₂, ni en termes de capacité (ACO₂) ou d'efficacité photosynthétiques.

Les oscillations complexes (résonnances) de fluorescence sous lumière sinusoïdale représentent un phénomène qui semble limité au PSII : dans le système complexe que forment les différentes composantes photosynthétiques, ces résonnances sont amorties et deviennent non-significatives au niveau des réactions situées plus en aval vers les réactions biochimiques de la photosynthèse.

Mots-clés : fluorescence chlorophyllienne; harmoniques; lumière sinusoïdale; taux d'assimilation du CO₂

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	ii
RÉSUMÉ.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	xii
 CHAPITRE I	
INTRODUCTION ET REVUE DE LITTÉRATURE.....	1
1.1 Introduction et problématique générale	1
1.2 Aperçu de la photosynthèse	3
1.2.1 Les chloroplastes.....	3
1.2.2 Phase photochimique de la photosynthèse.....	5
1.2.2.1 Absorption de l'énergie lumineuse et antennes collectrices de lumière	5
1.2.2.2 Composantes du transport photosynthétique d'électrons	6
1.2.3 Phase biochimique de la photosynthèse.....	10
1.2.3.1 Le cycle de Calvin	10
1.2.3.2 Synthèse de l'amidon et de saccharose.....	11
1.2.3.3 Mécanismes de régulation de la phase biochimique.....	11
1.3 Mécanismes de quenching non photochimique (NPQ)	12
1.3.1 Le quenching énergie-dépendant qE.....	12
1.3.2 Transitions d'états qT	13
1.3.3 La photoinhibition qI	14
1.4 La fluorescence chlorophyllienne.....	15
1.5 Notion de complexité d'un système	17
1.6 Oscillations de la photosynthèse.....	18
1.6.1 Oscillations lors de l'induction de la photosynthèse	18
1.6.2 Sous lumière sinusoïdale	19
1.7 Objectifs.....	22

CHAPITRE II	
MATÉRIELS ET MÉTHODES	23
2.1 Matériel végétal et conditions de croissance	23
2.2 Mesures de fluorescence et de l'assimilation de CO ₂	23
2.3 Protocole expérimental	26
2.4 Transformée rapide de Fourier	27
2.5 Concentrations en chlorophylles.....	28
2.6 Analyses statistiques.....	29
CHAPITRE III	
RÉSULTATS.....	30
3.1 Comparaison de l'amplitude des résonances aux taux d'assimilation du CO ₂ chez trois espèces cultivées sous deux conditions de croissances (intérieur et extérieur).....	30
3.1.1 Caractérisation des plantes.....	30
3.1.2 Patrons de fluorescence chlorophyllienne sous lumière sinusoïdale	31
3.1.3 Rendement quantique du PSII (YII) et le Quenching non photochimique (YNPQ).....	35
3.1.4 Résonances et taux de photosynthèse	38
3.2 Comparaison des amplitudes des oscillations aux taux d'assimilation du CO ₂ , augmentant en fonction du temps, lors de l'induction de la photosynthèse	40
3.3 Comparaison des amplitudes des oscillations aux taux d'assimilation du CO ₂ , augmentant en fonction du temps, sous l'effet des températures non-optimales (10 °C, 25 °C et 40 °C).....	43
3.4 Comparaison des taux d'assimilation du CO ₂ obtenus sous différentes lumières sinusoïdales (différentes périodes et amplitudes) à ceux obtenus sous lumière continue d'intensité équivalente (même quantité de photons).....	47
CHAPITRE IV	
DISCUSSION	52
CHAPITRE V	
CONCLUSION.....	60
BIBLIOGRAPHIE.....	62

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
3.1 Valeurs moyennes du rendement quantique maximal du PSII (F_v/F_m) et de la concentration en chlorophylles des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur)	31
3.2 Y_{II} et Y_{NPQ} moyens mesurés lors d'un cycle d'une période de lumière sinusoïdal des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur)	38
3.3 Équation et coefficient de corrélation des courbes de tendance de la composante principale (CP) ainsi que la somme des harmoniques lors de l'induction de la photosynthèse des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur)	43

LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1.1	Courbe de saturation de lumière : la représentation typique de la relation entre l'intensité lumineuse et la photosynthèse mesurée dans des conditions stables (Taiz et Zeiger 2002).....	2
1.2	Coupe longitudinale dans laquelle figurent toutes les composantes d'un chloroplaste (www.vscht.cz).....	3
1.3	Éléments de la membrane thylacoïdale intervenant dans la photosynthèse (Horton et al. 1994).....	4
1.4	Transport directionnel de l'énergie lumineuse dans les antennes collectrices de la lumière (Taiz et Zeiger 2002)	5
1.5	Représentation des transporteurs en fonction de leur potentiel redox : Schéma en « Z ».....	7
1.6	Schéma du photosystème II (PSII) (Nield 1997).....	8
1.7	Structure et fonction du PSI dans la membrane thylacoïdale (www.snv.jussieu.fr).....	9
1.8	Cycle de Calvin (Taiz et Zeiger 2002).....	10
1.9	Cycle des xanthophylles (Demmig-Adams et al. 1996)	13
1.10	Le phénomène des transitions d'états et le déplacement de quelques antennes du PSII au PSI (biologie.univ-mrs.fr)	14
1.11	Rétroaction négative : la convergence vers un but (Rosnay 1975).....	18
1.12	Les oscillations au cours de l'induction de la photosynthèse (Walker 1992)	19
1.13	Harmoniques forcées de la fluorescence chlorophyllienne induite par la lumière sinusoïdale (Nedbal et Brezina 2002).....	20
1.14	Patrons de fluorescence chlorophyllienne selon diverses combinaisons d'intensité lumineuses et de périodes pour les plans cultivés en chambre de croissance (Bonin et al.) (En préparation).....	21

2.1	Light control (LC100) avec les diodes DEL : dispositif de commande et d'émission de la lumière	24
2.2	XE-PAM (Pulse Amplitude Modulation) : appareil de mesure de fluorescence	25
2.3	Appareils de mesure d'échange gazeux	26
2.4	Patron de fluorescence chlorophyllienne induit sous lumière sinusoïdale de période 120 s pour le haricot intérieur	27
2.5	Périodogramme issu de la déconvolution du signal de fluorescence chlorophyllienne par le logiciel Matlab pour le haricot intérieur. (N.B. Le temps de la période est multiplié par 10.)	28
3.1	Courbes de fluorescence chlorophyllienne induite sous lumière sinusoïdale de période 120 s des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur)	32
3.2	Composante principale, des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur)	33
3.3	Somme des harmoniques des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance	34
3.4	Rapport de la somme des harmoniques normalisée par la composante principale, des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur)	35
3.5	Courbes de tendance de l'évolution de Y (II) au cours d'une durée d'une période de 120 s	36
3.6	Courbes de tendance de l'évolution de Y(NPQ) au cours d'une durée de période de 120 s	37
3.7A	Comparaison au niveau du taux d'assimilation de CO ₂ des plantes cultivées dans la chambre de croissance sous une lumière sinusoïdale et continue	39
3.7B	Comparaison au niveau du taux d'assimilation de CO ₂ des plantes cultivées dans les conditions de l'extérieur sous une lumière sinusoïdale et continue	39
3.8	Courbes de tendance de l'évolution du taux d'assimilation de CO ₂ au cours du temps des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur) sous une lumière sinusoïdale	41

3.9	Courbes de fluorescence chlorophyllienne induite sous lumière sinusoïdale de période 120s pour les températures 10, 25 et 40 °C chez le tournesol intérieur	44
3.10	Composante principale pour les trois températures (10, 25 et 40 °C) chez le tournesol intérieur	45
3.11	Somme des harmoniques pour les trois températures (10, 25 et 40 °C) chez le tournesol intérieur	45
3.12	Rapport de la somme des harmoniques par la composante principale pour les trois températures (10, 25 et 40 °C) chez le tournesol intérieur	46
3.13	Taux bruts de photosynthèse pour les trois températures (10, 25 et 40 °C) sous une lumière sinusoïdale chez le tournesol intérieur	47
3.14	Taux d'assimilation de CO ₂ en fonction de la période de la lumière sinusoïdale oscillant entre 0 et 1000 (μmol m ⁻² s ⁻¹) (Intensité équivalente de 500 μmol m ⁻² s ⁻¹)	48
3.15	Courbe de tendance des courbes de saturation lumineuse faite sous une lumière continue et lumière sinusoïdale (P20 s et P120 s)	49
3.16	Pente initiale de la courbe de saturation lumineuse faite sous une lumière continue	50
3.17	Pente initiale de la courbe de saturation lumineuse faite sous une lumière sinusoïdale de période 20 s	50
3.18	Pente initiale de la courbe de saturation lumineuse faite sous une lumière sinusoïdale de période 120 s	51

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

PSI	Photosystème I
PSII	Photosystème II
P680	Chlorophylle <i>a</i> spéciale du centre réactionnel du PSII
P700	Chlorophylle <i>a</i> spéciale du centre réactionnel du PSI
QA	Plastoquinone A
QB	Plastoquinone B
ATP	Adénosine triphosphate
ADP	Adénosine diphosphate
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
Phéo	Phéophytine
Chl	Chlorophylle
FChl	Fluorescence chlorophyllienne
Fm	Fluorescence chlorophyllienne maximale pour une feuille adaptée à l'obscurité
Fo	Fluorescence chlorophyllienne minimale en absence de lumière actinique
ΔF	Variation de la fluorescence chlorophyllienne ($F_m - F_o$)
Fv	Fluorescence variable ($F_v = F_m - F_o$)
Fv/Fm	Rendement photochimique maximum du PSII
R^2	Coefficient de corrélation
Y_{II}	Rendement photochimique du PSII
Y_{NO}	Rendement de la dissipation non photochimique non-régulée de l'énergie perdue dans le PS II
Y_{NPQ}	Rendement de la dissipation régulée non photochimique de l'énergie perdue dans le PS II
ΔY_{NPQ}	Variation maximale ($Y_{NPQ_{max}} - Y_{NPQ_{min}}$) du rendement régulé non photochimique de l'énergie perdue dans le PS II
ΣH	Somme des harmoniques

CHAPITRE I

INTRODUCTION ET REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 Introduction et problématique générale

Les plantes dans les milieux naturels subissent souvent de larges et rapides variations de la densité du flux de photons photosynthétiques actifs (PPFD) causées par la structure du couvert végétal, le vent et les nuages (Smith et al. 1989; Knapp and Smith 1990; Pearcy et al. 1996; Kirschbaum et al. 1998). Les feuilles des plantes ombragées par d'autres feuilles subissent aussi des légères fluctuations dues et au mouvement à travers les sous-étages des forêts, et les changements irréguliers au niveau de la lumière grâce aux mouvements des feuilles les plus hautes dans la canopée. Ces fluctuations peuvent contribuer ainsi dans une proportion considérable aux rayonnements totaux reçus en une journée par une feuille (Percy 1990; Percy et al. 1996). Face à ces variations lumineuses, la plante doit utiliser différents mécanismes de régulation pour optimiser son efficacité photosynthétique. Les fluctuations de la lumière extérieure modulent le processus de la photosynthèse, mais ils ont été considérés comme des facteurs limitant la productivité des plantes (Kuppers et Pfiz 2009).

La réponse de la photosynthèse par rapport à la lumière est décrite par la courbe de saturation lumineuse (Figure 1.1) : un plateau est obtenu pour des valeurs d'éclairement plus ou moins élevées, où la capacité d'absorption des photons dépasse la capacité de leur utilisation. Ainsi, les réactions d'assimilation du CO_2 deviennent limitantes et la photosynthèse présente un taux maximal.

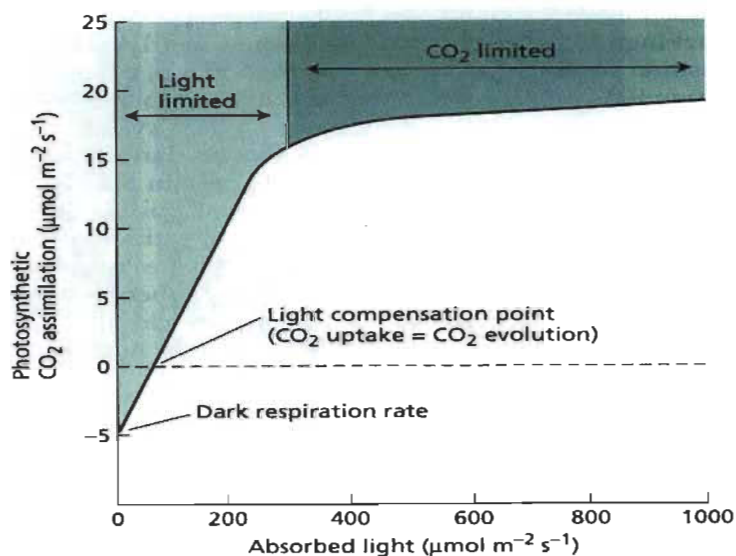


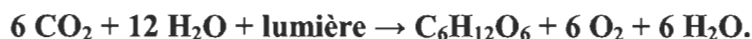
Figure 1.1 Courbe de saturation de lumière : la représentation typique de la relation entre l'intensité lumineuse et la photosynthèse mesurée dans des conditions stables (Taiz et Zeiger 2002).

Cependant, cette relation entre le taux de photosynthèse et l'intensité lumineuse s'applique à des changements de lumière relativement lents (minutes, heures...) jusqu'à atteindre de nouvelles conditions d'équilibre. Ces conditions ne prennent pas en considération les conditions naturelles dont les changements sont rapides (secondes...). Notre compréhension de la photosynthèse est acquise sous lumière continue ou lors d'un seul changement de lumière, mais plusieurs études affirment que la lumière dynamique est utilisée moins efficacement que la lumière continue (Tennessen et al. 1995). Tel que mentionné plus haut, la photosynthèse dépend de nombreux mécanismes de régulation, dont les dynamiques ne sont pas considérées par la courbe de saturation de lumière. La productivité primaire prédite à partir de modèles basés sur l'état d'équilibre de la photosynthèse peut être surestimée de près de 30 % (Kuppers et Pfiz 2009). Par conséquent, l'étude de la photosynthèse sous lumière dynamique demeure nécessaire pour mieux comprendre les réponses de ce phénomène vis-à-vis les variations importantes de la lumière et révéler tous les mécanismes introduits pour que ce système optimise son activité.

1.2 Aperçu de la photosynthèse

La photosynthèse est un ensemble de réactions permettant aux végétaux (algues, plantes et certaines bactéries) de convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique utilisable pour la synthèse de matière organique. Lors de ce processus, les glucides ($C_6H_{12}O_6$) sont obtenus suite à l'assimilation du dioxyde de carbone (CO_2). Ce processus est rendu possible grâce à l'ensemble des réactions produisant le pouvoir réducteur (NADPH) et une source d'énergie (ATP) issue, à la base, de la photolyse de l'eau couplée à un dégagement d'oxygène (Whitmarsh et Govindjee 1999).

La photosynthèse se résume par l'équation suivante :



Dans cette équation globale, les 24 e^- sont retirés lors de la photolyse de l'eau pour réduire 6 CO_2 en une molécule d'hexose : $6 CO_2 \rightarrow C_6H_{12}O_6$.

1.2.1 Les chloroplastes

La photosynthèse se déroule dans les chloroplastes qui ont une forme de lentille ou bien une forme ellipsoïdale avec une taille de 5 à 10 μm de longueur et de 2 à 4 μm en épaisseur. (Figure 1.2).

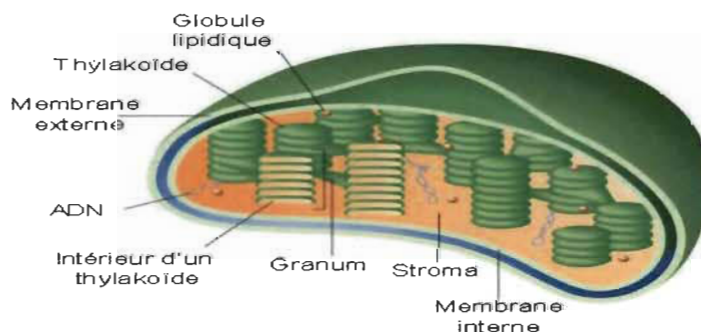


Figure 1.2 Coupe longitudinale dans laquelle figurent toutes les composantes d'un chloroplaste (www.vscht.cz).

La structure typique du chloroplaste est le système membranaire connue sous le nom membranes thylacoïdales, plus brièvement thylacoïdes. (Mustardy et Garab 2003). Les thylacoïdes sont le site des diverses réactions de la phase photochimique (ou phase claire) : dont l'absorption de la lumière, les réactions photochimiques, le transport d'électrons et de protons et la synthèse de NADPH et d'ATP qui serviront à réduire le CO_2 en sucre. Ces réactions de la phase photochimique se produisent au niveau de plusieurs complexes protéiques dont les photosystèmes I et II et leurs antennes collectrices de lumière, le complexe cytochrome b_6f et le facteur de couplage (ATP-synthase). En plus de ces composantes, il y a des transporteurs mobiles d'électrons : les plastoquinones et deux protéines mobiles qui sont la plastocyanine et la ferrédoxine. À l'intérieur du chloroplaste se retrouve le stroma qui est un milieu visqueux contenant toutes les enzymes requises pour la fixation du CO_2 et sa conversion en sucres et où s'effectue la phase biochimique (ou phase sombre). Le stroma contient aussi de l'ADN, ARN et des ribosomes qui permettent de synthétiser dans les chloroplastes plusieurs protéines impliquées dans la photosynthèse (Figure 1.3).

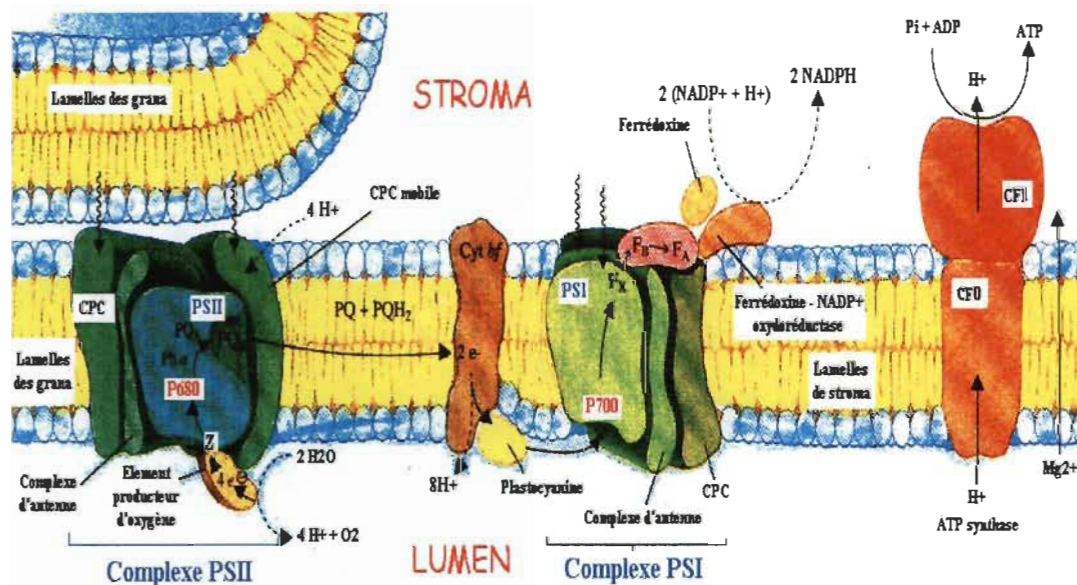


Figure 1.3 Éléments de la membrane thylacoïdale intervenant dans la photosynthèse (Horton et al. 1994).

1.2.2 Phase photochimique de la photosynthèse

1.2.2.1 Absorption de l'énergie lumineuse et antennes collectrices de lumière

Les pigments (Chl *a*, Chl *b* et caroténoïdes) sont présents dans les antennes collectrices de la lumière associées aux photosystèmes I et II. Chaque type de pigments possède un maximum d'absorption à une longueur d'onde donnée, et qui dépend de son environnement moléculaire (Figure 1.4). Ceci permet de couvrir l'ensemble des longueurs d'onde du visible, permettant à l'appareil photosynthétique d'absorber optimalement la lumière (Govindjee et Govindjee 1974).

Le rôle des antennes collectrices est d'absorber et de transférer l'énergie lumineuse jusqu'aux centres photochimiques où s'effectuent les réactions primaires de la photosynthèse. Les pigments chlorophylliens absorbent la lumière à des longueurs d'onde différentes. Le transfert de leur énergie se fera selon le transfert directionnel de l'énergie comme la montre Figure 1.4 vers des pigments jusqu'aux chlorophylles spéciales P680 et P700 dans les photosystèmes II et I respectivement.

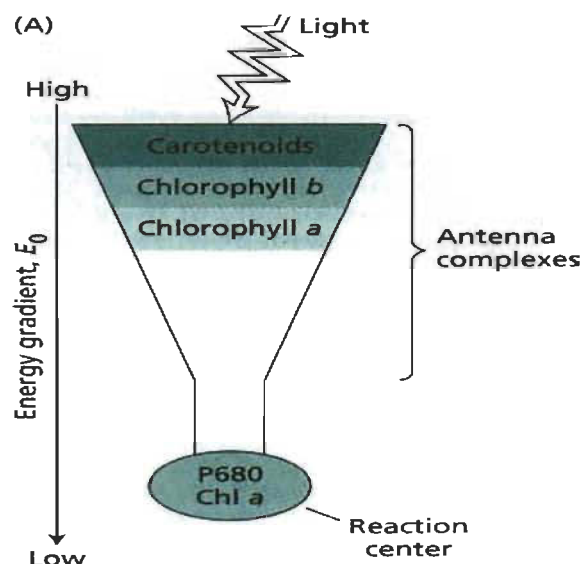


Figure 1.4 Transport directionnel de l'énergie lumineuse dans les antennes collectrices de la lumière (Taiz et Zeiger 2002).

1.2.2.2 Composantes du transport photosynthétique d'électrons

a) Les centres réactionnels et réactions photochimiques primaires

À l'intérieur des PSI et PSII, se trouve le centre réactionnel constitué d'une paire spéciale de chlorophylles *a* et de différentes composantes redox. Une des chlorophylles de la paire spéciale est capable de céder ses électrons à l'accepteur primaire (séparation des charges primaire) (Horton et al. 1994).

Dans les antennes, l'énergie d'excitation migrera jusqu'au centre réactionnel où pourra s'effectuer une réaction photochimique primaire qui consiste à la perte d'un électron (oxydation) par une molécule spéciale de chlorophylle *a*, P680 et P700 dans les photosystèmes II et I respectivement. Dans ce cas, il y aura un déclenchement d'une cascade de réactions d'oxydoréductions dans lesquelles l'eau joue un rôle de donneur primaire d'électrons en libérant des protons H^+ et le dioxygène (O_2) et le $NADP^+$ qui joue le rôle d'un accepteur final d'électron pour former le NADPH. La représentation des transporteurs en fonction de leur potentiel redox a permis d'obtenir un schéma en « zigzag » appelé schéma en « Z » (Figure 1.5).

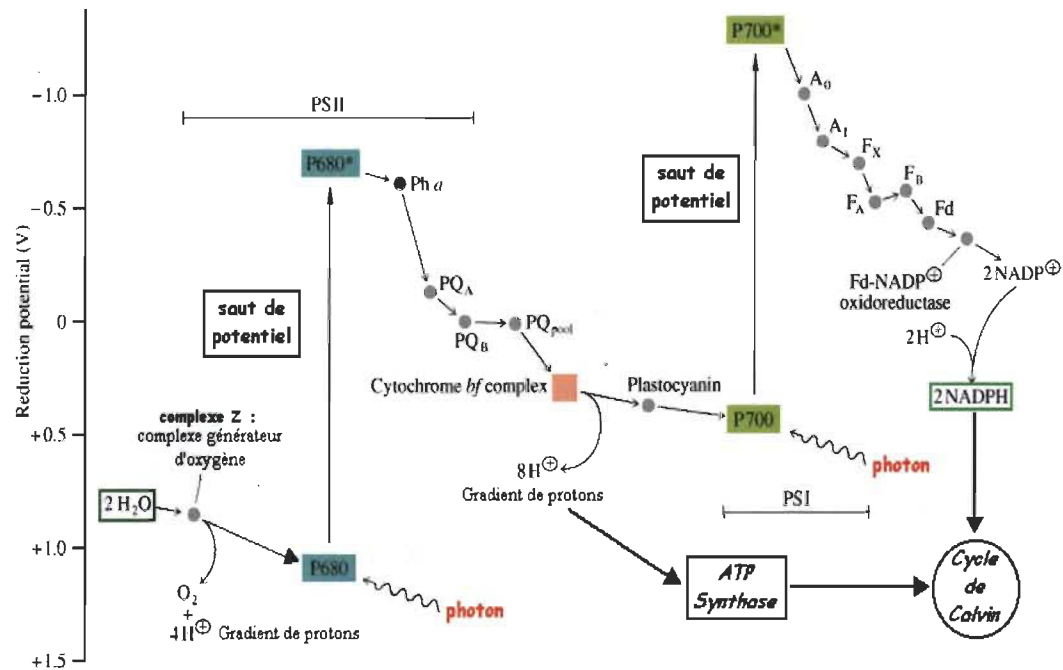


Figure 1.5 Représentation des transporteurs en fonction de leur potentiel redox : Schéma en « Z ».

Les stœchiométries entre les molécules de H_2O , O_2 et de NADPH assument que 4 photons sont absorbés par chacun des photosystèmes (Horton et al. 1994).

b) Le photosystème II

Le photosystème II (PS II) est un complexe multiprotéique, qui utilise l'énergie lumineuse pour oxyder l'eau et réduire les plastoquinones (PQ). Dans le *centre réactionnel du PSII* se trouve la paire spéciale de chlorophylles *a* qui absorbe la lumière à 680 nm (P680). Après excitation, le P680 cède un électron à une phéophytine qui le transfère à une plastoquinone (PQ) fixe (Q_A). Cette dernière cède son électron à une autre PQ qui est liée de façon temporaire au site Q_B (côté accepteur). Après avoir accepté 2 électrons et 2 protons, PQH₂ se libère et migre vers le complexe Cyt *b₆f* pour être oxydée. (Nield 1997) (Figure 1.6).

charge ultérieure et le transport des électrons conduisent à la réduction de la ferrédoxine via différentes composantes redox (complexe Fe-S, vit K, A, B). Les protéines du PSI sont responsables de l'arrangement précis des cofacteurs et de déterminer les propriétés redox des centres de transfert d'électrons.

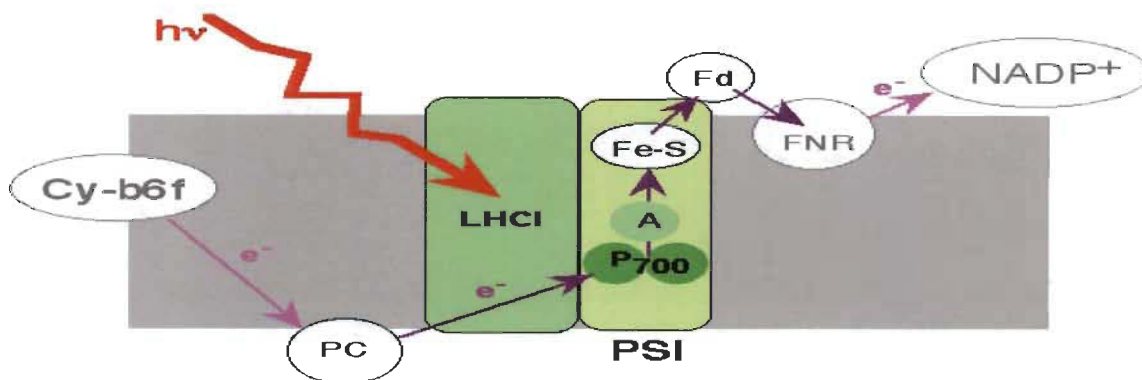


Figure 1.7 Structure et fonction du PSI dans la membrane thylacoïdale (www.snv.jussieu.fr).

e) Transport cyclique des électrons autour du PSI

Selon la disponibilité de NADP⁺ et les besoins métaboliques des cellules, la ferrédoxine peut réduire les molécules de PQ au niveau du complexe Cyt b₆f pour former le transport cyclique d'électrons autour du PSI. Un tel transport permet de pomper plus de protons dans le lumen des tylacoïdes et ainsi former plus d'ATP. Le transport cyclique d'électrons augmente donc la proportion d'ATP par rapport au NADPH produit (Taiz et Zeiger 2002).

f) Gradient de protons et photophosphorylation

La photolyse de l'eau et l'oxydation des PQH₂ par le complexe Cyt b₆f (les PQH₂ produites par le transport linéaire d'électrons et le transport cyclique d'électrons autour du PSI) contribuent à l'acidification du lumen et la formation du gradient de proton transmembranaire. L'énergie de ce gradient de protons est dissipée par l'ATP synthase. (Taiz et Zeiger 2002).

1.2.3 Phase biochimique de la photosynthèse

1.2.3.1 Le cycle de Calvin

L'ATP et le NADPH sont des composés à énergie élevée produits par le transport d'électrons induit par la lumière, fournissant l'énergie au cycle de Calvin. Ce cycle biochimique constitue une série de réactions biochimiques pouvant être décomposées en trois phases : carboxylation, réduction et régénération (Malkin et Niyogi 2000). Durant la phase de carboxylation, le CO_2 et l'eau sont combinés enzymatiquement, par le Rubisco, à un sucre à 5 carbones qui est le ribulose-1-5-biphosphate (RuBP), pour former 2 molécules de 3 carbones, le 3-phosphoglycérate (3-PGA). Au cours de la phase de réduction le 3-PGA est réduit en triose-phosphate (glycéraldéhyde 3-phosphate) par le NADPH et l'ATP (Figure 1.8). À la fin et durant la phase de régénération, la majeure partie des trioses-P est utilisée à la resynthèse du RuBP à l'aide de l'ATP permettant de recommencer le cycle, l'autre partie (1/6) allant à la synthèse d'amidon et/ou de saccharose (sucrose).

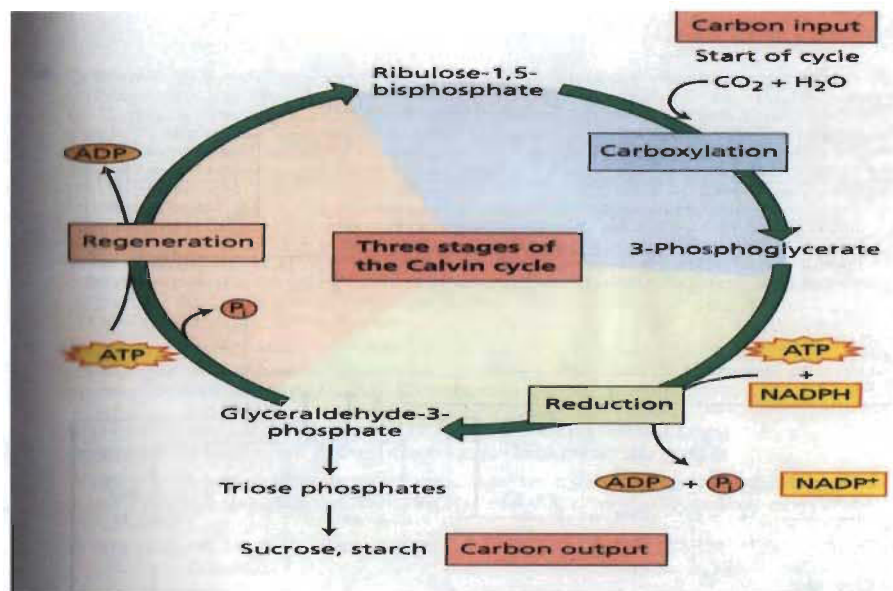


Figure 1.8 Cycle de Calvin (Taiz et Zeiger 2002).

1.2.3.2 Synthèse de l'amidon et de saccharose

L'équilibre entre les synthèses de saccharose et d'amidon a une grande importance physiologique vu que le saccharose est soluble et il est le principal sucre exporté des cellules photosynthétiques, tandis que l'amidon est insoluble et s'accumule dans les chloroplastes le jour pour être partiellement ou totalement dégradé la nuit. L'équilibre entre le saccharose et l'amidon est hautement régulé, et dépend de la sortie des trioses-P hors des chloroplastes vers le cytosol. Cette sortie est elle-même contrôlée par la concentration cytosolique de phosphate inorganique (Pi). La sortie se fait par un système antiport Pi/triose-P. Si la concentration de Pi dans le cytosol est faible, les trioses-P demeurent dans le chloroplaste et favorisent la synthèse et le stockage de l'amidon. Au contraire, une concentration cytosolique élevée en Pi favorisera la synthèse du saccharose dans le cytosol et son exportation vers les autres organes via le phloème.

1.2.3.3 Mécanismes de régulation de la phase biochimique

La Rubisco et d'autres enzymes sont activées en présence de lumière en conséquence du transport photosynthétique d'électrons. L'activation de la Rubisco est particulièrement complexe puisqu'elle requiert un pH alcalin, une molécule de CO₂ d'activation, un atome de Mg²⁺, ainsi qu'une enzyme spécifique dite la RuBisCO activase. La Rubisco fonctionne le mieux à un pH proche de 8, et est relativement inactive à pH = 7. Comme le transport d'électrons conduit à la génération d'un gradient de pH à travers la membrane des thylacoïdes, le pH du stroma augmente de 7 à 8. En conséquence du changement de pH, d'autres ions dont le Mg²⁺ traversent la membrane des thylacoïdes pour compenser les différences de charge. De plus, la RuBisCO activase libère le ribulose-1,5-diphosphate lié à la RuBisCO inactive, permettant l'activation de cette dernière par le CO₂ (CO₂ dit d'activation) (Taiz et Zeiger 2002). La Rubisco nécessite un atome de Mg²⁺ pour fonctionner et la combinaison de l'augmentation du pH en plus le Mg²⁺ conduit à une augmentation significative de l'activité de la Rubisco.

1.3 Mécanismes de quenching non photochimique (NPQ)

1.3.1 Le quenching énergie-dépendant qE

Sous certaines conditions environnementales, l'énergie absorbée excède la capacité d'assimilation de la photosynthèse. Cet excès d'énergie doit donc être dissipé efficacement par différents mécanismes de photoprotection pour éviter des photodommages à l'appareil photosynthétique (Müller et al. 2001, Horton et al. 2005). Parmi ces mécanismes on cite le quenching non photochimique (NPQ). Le NPQ est un terme générique regroupant trois types de quenching non-photochimique, les qE, qT et qI. Ces trois types de quenching se distinguent surtout par les mécanismes impliqués, par leurs cinétiques d'induction et de relaxation, ainsi que leur réponse aux différents inhibiteurs.

Parmi les NPQ, le quenching énergie-dépendant (ou ΔpH -dépendant) qE est le plus important en termes de quantité d'énergie dissipée (et donc de protection contre les effets néfastes d'une intensité lumineuse excessive) et de rapidité d'induction (ordre des secondes à la minute). Sous un excès de lumière, l'incapacité des réactions biochimiques de la photosynthèse à utiliser le pouvoir réducteur (ATP et NADPH) généré par le transport photosynthétique d'électrons se traduit tout d'abord par une hausse du gradient de pH dans les thylacoïdes des chloroplastes (le lumen devenant plus acide et le stroma plus alcalin) (Foyer et al. 1990). L'acidification du lumen entraîne l'activation de l'enzyme Violaxanthine dé-époxydase responsable de la conversion en deux étapes de la violaxanthine en zéaxanthine via l'anthéroxanthine (Figure 1.9). La présence de zéaxanthine diminue l'efficacité de transfert de l'énergie lumineuse vers les centres réactionnels et cause donc une plus grande dissipation de cette énergie sous forme de chaleur par des vibrations moléculaires (Foyer et al. 1990; Humphries et Falkowski 1994). Il en résulte une baisse de l'efficacité photochimique (nombre de réactions photochimiques par photon absorbé) et une atténuation de l'émission de la fluorescence chlorophyllienne. Ce mécanisme de régulation est induit et relaxé dans l'ordre de la minute, quoiqu'à des taux variables selon les études (Quick et Stitt 1989; Hodges et al. 1989).

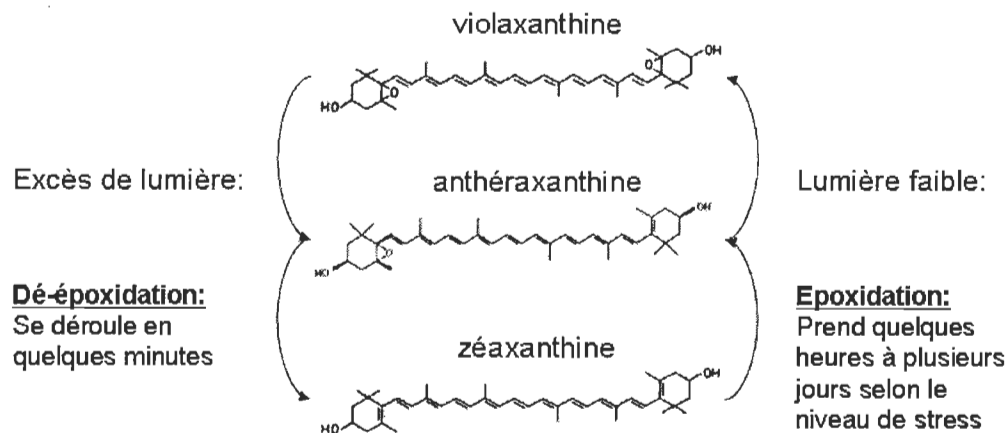


Figure 1.9 Cycle des xanthophylles (Demmig-Adams et al. 1996).

1.3.2 Transitions d'états qT

La deuxième composante du NPQ est qT, causée par les transitions d'états SI-SII. Ce mécanisme s'active et relaxe en quelques minutes. QT est important chez les algues, mais plutôt négligeable dans la plupart des plantes lors de l'exposition à une lumière excessive. Ce mécanisme est surtout utile pour optimiser la distribution de l'énergie absorbée entre les PSII et PSI. Un excès d'énergie au niveau du PSII par rapport à l'excitation du PSI entraîne une forte réduction du pool des plastoquinones. Cette réduction des PQ active une enzyme kinase qui va phosphoryler les antennes collectrices du PSII (LHCII). Ces dernières se détacheront du PSII et migreront vers les PSI pour rétablir une absorption balancée de la lumière entre les deux photosystèmes (Figure 1.10). (Tevini et Hader 1987).

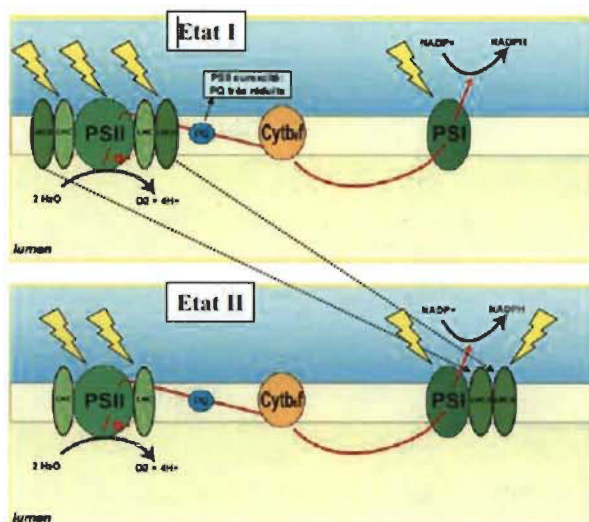


Figure 1.10 Le phénomène des transitions d'états et le déplacement de quelques antennes du PSII au PSI (biologie.univ-mrs.fr).

1.3.3 La photoinhibition qI

La troisième composante du NPQ est le qI, dont la cinétique de relaxation est très lente, de l'ordre de dizaines de minutes à l'heure. Elle est liée à la photoinhibition de la photosynthèse (Müller et al. 2001). Lorsque les deux autres composantes du NPQ deviennent insuffisantes pour protéger l'appareil photosynthétique contre une forte lumière, les PSIIs sont continuellement endommagés et remplacés. Lorsque le taux de photo-dommages excède le taux de photoréparation, il y a une accumulation de PSIIs inactifs et donc photo inhibition. En cas d'intensité lumineuse trop forte prolongée, une photoinhibition irréversible, dite « chronique » entraîne une destruction des pigments photosynthétiques (Powles, 1984; Hendry et al. 1987; Alves et al. 2002), par photooxydation. Le taux de photo-dommages est directement proportionnel à l'intensité lumineuse absorbée par les PSIIs. La lumière, en particulier les ultraviolets et la lumière bleue, inactive le complexe de dégagement d'oxygène du PSII en provoquant le relâchement des atomes de manganèse qui y sont liés. Cette photoinactivation du complexe de dégagement d'oxygène inhibe le transfert d'électrons de l'eau vers le centre réactionnel. Ceci prolonge le temps de vie de la forme oxydée de P680 dont l'accumulation augmente les chances que des molécules du PSII soient endommagées par oxydation (Nishiyama et al. 2006; Hakala et al. 2005).

1.4 La fluorescence chlorophyllienne

La lumière absorbée par l'appareil photosynthétique n'est pas totalement transformée en énergie chimique. Lors du transfert de l'énergie des antennes vers les centres réactionnels, une partie est perdue sous forme de chaleur et une autre, sous forme de fluorescence. La fluorescence chlorophyllienne représente une sonde intrinsèque de l'efficacité photosynthétique, ou plus précisément, du rendement quantique des réactions photochimiques du photosystème II (PSII). L'analyse de la fluorescence chlorophyllienne est donc devenue l'une des techniques les plus puissantes et les plus utilisées à la disposition de la physiologie végétale et aux écophysiologistes (Maxwell et Johnson 2000).

Lorsqu'une molécule de chlorophylle absorbe un photon, un de ses électrons passe à un niveau excité. En retournant à son état fondamental, une fraction de l'énergie d'excitation est dissipée sous forme de fluorescence. L'émission de la fluorescence chlorophyllienne provient essentiellement de l'antenne collectrice du photosystème II (PSII); on montre, dans la plupart des situations, que l'émission de la fluorescence par le PSI est faible comparativement à celle du PSII et ne représente au plus que 10 à 20 % de l'émission totale. De plus, l'émission de fluorescence venant du PSII est variable tandis que celle qui vient du PSI ne l'est pas (Krause et Weis 1984). Chez une feuille adaptée à l'obscurité lorsque Q_A est oxydé dans tous les PSII c'est-à-dire que tous les centres réactionnels sont ouverts, l'efficacité photochimique est maximale donc la concentration en zéaxanthine est minimale d'où l'intensité de la fluorescence est minimale et elle est dénotée F_0 (seulement 1 % de l'énergie perdue en fluorescence). Si l'on applique un flash lumineux saturant de 1 s (trop court pour permettre l'accumulation de zéaxanthine), tous les Q_A sont momentanément réduits (centres réactionnels fermés), l'efficacité photochimique est minimale et donc la fluorescence est maximale (F_m).

Chez une feuille exposée à une intensité lumineuse quelconque, le Q_A est réduit dans une fraction des PSII d'où une augmentation de l'intensité de la fluorescence (F ou F_s). En même temps, le transport d'électrons dans les thylacoïdes cause la formation

d'un ΔpH , qui lui entraîne l'accumulation de zéaxanthine, et donc une plus grande dissipation de l'énergie sous forme de chaleur (qE , voir section précédente). C'est pourquoi lorsqu'on applique un flash lumineux saturant causant la fermeture momentanée de tous les centres réactionnels, la fluorescence maximale (F_m') pour ces conditions est inférieure à F_m (à cause de la plus grande dissipation de l'énergie sous forme de chaleur en présence de zéaxanthine).

Ces observations peuvent être traduites mathématiquement en considérant la fluorescence chlorophyllienne comme la somme des probabilités Φ de la dissipation de l'énergie lumineuse utilisée par les réactions photochimiques (Φ_p), ou dissipée sous forme de chaleur (Φ_c) et de fluorescence (Φ_f), cette somme étant égale à 1.

$$\Phi_p + \Phi_c + \Phi_f = 1 \quad (\text{éq. 1})$$

Lors d'un flash saturant :

$$\Phi_p = 0 \text{ et } \Phi_{cm} + \Phi_{fm} = 1 \quad (\text{éq. 2})$$

Lors d'un court flash saturant, on assume que les importances relatives de Φ_c et Φ_f demeurent constantes, c.-à-d. les mêmes qu'avant le flash saturant :

$$(\Phi_c / \Phi_f) = (\Phi_{cm} / \Phi_{fm}) \quad (\text{éq. 3})$$

Φ_p : Rendement photochimique

Φ_c : Rendement d'énergie transformée en chaleur

Φ_f : Rendement d'énergie transformée en fluorescence

En réaménageant les eq.1-3 et en remplaçant Φ_f et Φ_{fm} par F_o et F_m respectivement, on obtient le rendement photochimique maximal du PSII (F_{IIIm}) :

$$\Phi_{IIIm} = (F_m - F_o) / F_m = F_v / F_m$$

Le ratio F_v/F_m représente l'efficacité photochimique maximale du PSII et permet de prédire l'efficacité maximale de la photosynthèse lorsque la plante est soumise à de faibles intensités de lumière qui limitent la photosynthèse (aussi estimée par la pente initiale de la courbe du taux de photosynthèse en fonction de l'intensité lumineuse). Quant au ratio $\Delta F/F_m'$ (soit $(F_m' - F_s)/F_m'$), il estime l'efficacité photochimique opérationnelle du PSII et permet de prédire l'efficacité de la photosynthèse (mmole CO_2 /mmole photons absorbés) peu importe l'intensité lumineuse ambiante (Genty et al. 1989).

1.5 Notion de complexité d'un système

La photosynthèse avec ses différents éléments en interaction (photosystèmes, plastoquinones, pool de métabolites...) et reliés par des différents mécanismes de régulation (cycle des xanthophylles, les transitions d'états, l'induction de la photosynthèse...) constitue un exemple typique d'un système complexe. Un système complexe démontre des propriétés globales qui émergent de l'interaction entre les différents éléments qui le composent qui sont organisés en fonction d'un but (Rosnay 1975). Un système complexe se résume en quatre grands éléments : il possède une grande variété de composantes ou d'éléments possédants des fonctions spécialisées. De plus, les composantes y sont hiérarchisées, celles-ci sont interconnectées les unes aux autres dans un grand réseau, formant une grande variété de liaisons. Ces liaisons sont non-linéaires, c'est-à-dire qu'elles se caractérisent par l'émergence de nouvelles propriétés et par une grande résistance aux changements (Figure 1.11) (Rosnay 1975). L'aspect dynamique est une propriété importante des systèmes complexes. Lorsque ce système est soumis à des conditions variables du milieu, il va osciller jusqu'à atteindre son équilibre (homéostasie ou équilibre dynamique). Ces oscillations peuvent fournir des informations sur la dynamique interne d'un système complexe.

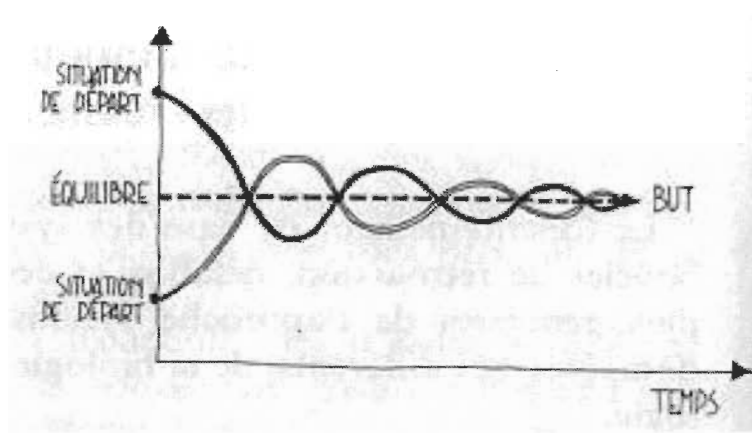


Figure 1.11 Rétroaction négative : la convergence vers un but (Rosnay 1975).

1.6 Oscillations de la photosynthèse

La photosynthèse peut donc être considérée comme un système complexe. Comme tous systèmes, lorsque la photosynthèse est soumise à des conditions variables de l'environnement, son activité va osciller jusqu'à l'atteinte d'un nouvel état d'équilibre (Figure 1.12). Selon Laisk (1989), 'comprendre les oscillations c'est de comprendre la photosynthèse'.

1.6.1 Oscillations lors de l'induction de la photosynthèse

Lorsqu'une feuille préadaptée à la lumière et ayant été placée à l'obscurité est soudainement éclairée, celle-ci va démontrer des oscillations prononcées de son activité photosynthétique qui s'amortissent dans le temps (Figure 1.13). Les taux de dégagement d' O_2 et d'assimilation de CO_2 varient en parallèle tandis que les intensités de FChl varient de façon opposée. Selon Walker (1992), ces oscillations sont une manifestation de la réaction excessive d'un ou plusieurs mécanismes de régulation. Il a été suggéré que ces oscillations de la photosynthèse seraient causées par une limitation transitoire (tendance oscillatoire) du phosphate inorganique (Figure 1.13), empêchant la dissipation du gradient des protons et le transport linéaire des électrons. Les plantes de différentes conditions physiologiques démontrent des degrés différents d'oscillations de la photosynthèse. Cependant, la signification physiologique des oscillations peut être

variable selon les espèces et conditions physiologiques, et ne peut être connue *a priori* (Walker 1992).

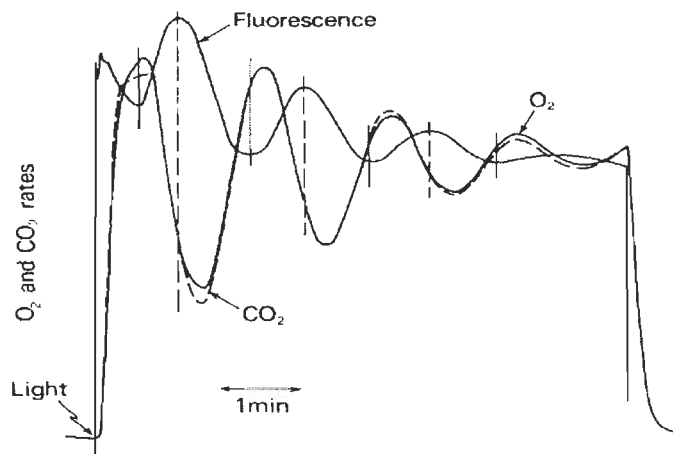


Figure 1.12 Les oscillations au cours de l'induction de la photosynthèse (Walker 1992).

1.6.2 Sous lumière sinusoïdale

En 2002, Nedbal et Brezina ont induit des oscillations continues de la photosynthèse par des lumières sinusoïdales (lumières dynamiques) (Figure 1.13). L'analyse des courbes de la fluorescence chlorophyllienne a montré que les oscillations sont la somme de plusieurs composantes harmoniques. Selon eux l'appareil photosynthétique s'adapte rapidement aux conditions extérieures pour éviter les désharmonisations nuisibles entre les flux d'énergie et la capacité de la plante à utiliser l'énergie absorbée. Les transitions d'état qui équilibrent la distribution d'énergie d'excitation entre les deux photosystèmes et le NPQ sont des exemples bien connus de la régulation moléculaire qui maintient l'homéostasie du processus de la photosynthèse par un rétrocontrôle négatif de l'apport de l'énergie incidente.

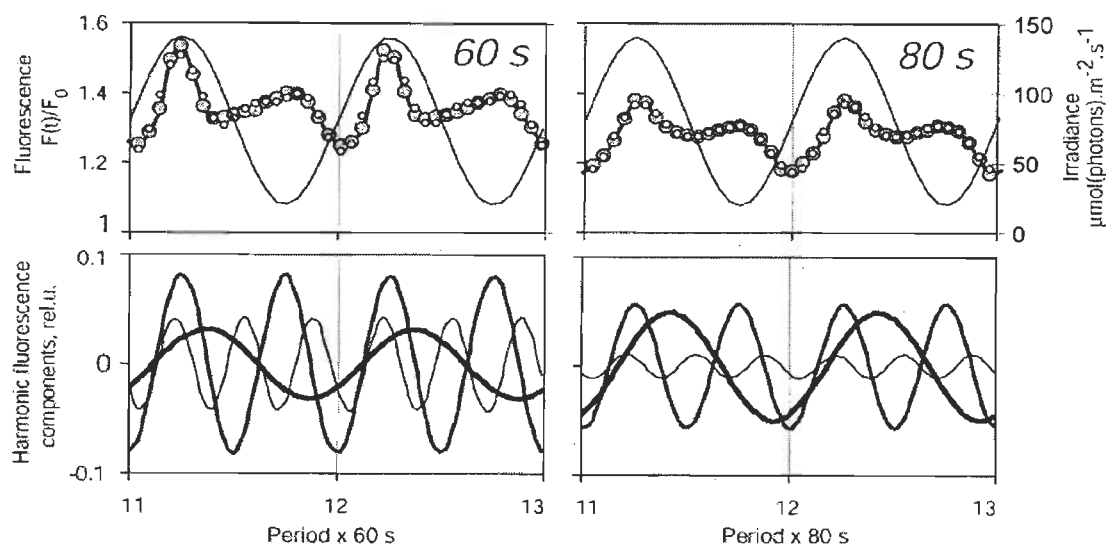


Figure 1.13 Harmoniques forcées de la fluorescence chlorophyllienne induite par la lumière sinusoïdale (Nedbal et Brezina 2002).

À la suite des travaux de Nedbal et Brezina (2002), une étude a été entreprise dans notre laboratoire par L. Bonin et coll. afin de mieux comprendre la nature des oscillations complexes de fluorescence. Cette étude se distingue par l'utilisation de façon systématique de lumières sinusoïdales de différentes périodes (20, 40, 60, 90 et 120 s) et différentes amplitudes (de 200, 400... 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et en mesurant les rendements quantiques des réactions photochimiques du PSII (YII), le rendement quantique de la dissipation non photochimique régulée de l'énergie d'excitation (YNPQ) ainsi que le rendement quantique de la dissipation non photochimique non régulée (YNO) tout au cours de la période de chacune des lumières sinusoïdales utilisées. La Figure 1.14 présente les patrons de fluorescence enregistrés en fonction du temps sous les lumières sinusoïdales (différentes périodes et amplitudes) lors des deux dernières périodes. Ces signaux de fluorescence, déconvolués à l'aide de la transformée rapide de Fourier, sont composés d'une composante principale (CP) et de plusieurs harmoniques (H1, H2...). Les résultats ont montré que 1) la résonance présente dans les signaux de FChl, estimée par le rapport $\frac{\sum H}{CP}$ était significativement plus grande chez les plantes cultivées à l'extérieur que chez les plantes cultivées à l'intérieur, 2) les amplitudes de la CP et des harmoniques augmentaient avec l'amplitude des lumières sinusoïdales et

tandis que 3) l'augmentation de la période des lumières sinusoïdales diminuait les amplitudes de la CP, sans affecter celles des harmoniques. Autre point important, 4) les amplitudes de la somme des harmoniques étaient bien corrélées aux variations de YNPQ mesurées au cours d'un cycle de lumière sinusoïdale, supportant l'idée que ce mécanisme de régulation est impliqué dans les oscillations de la photosynthèse, du moins celles de la FChl.

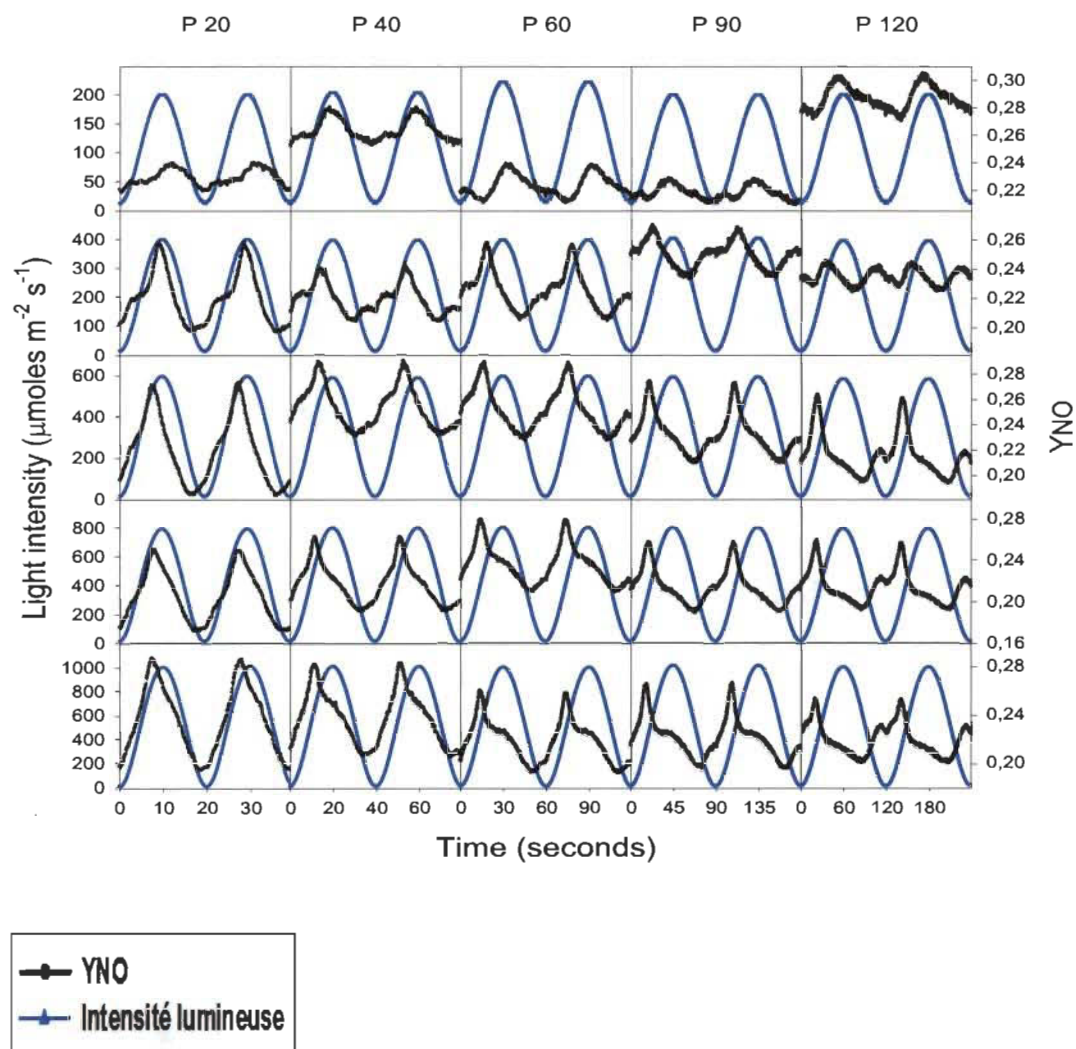


Figure 1.14 Patrons de fluorescence chlorophyllienne selon diverses combinaisons d'intensité lumineuses et de périodes pour les plans cultivés en chambre de croissance (Bonin et al.) (En préparation).

Ces résultats, quoique fort intéressants, ne permettent pas de répondre à une question fondamentale : quelle est la signification physiologique de ces résonances dans

les patrons de FChl? Autrement dit, est-ce que ces résonnances peuvent être une indication de l'efficacité de la photosynthèse sous la lumière dynamique?

1.7 Objectifs

L'objectif général de ce projet de maîtrise est de mieux comprendre l'efficacité de la photosynthèse sous lumière dynamique en étudiant les oscillations de la fluorescence chlorophyllienne (FChl) et le taux de photosynthèse (assimilation du CO_2) mesuré sous différentes lumières sinusoïdales.

Objectifs spécifiques :

1. Établir la signification physiologique des oscillations de la FChl (YNO) et des résonnances induites sous une lumière sinusoïdale en comparant leurs amplitudes :
 - a) Aux taux d'assimilation du CO_2 mesurés chez 3 espèces cultivées sous lumière naturelle (extérieur) et constante (intérieur).
 - b) Aux taux d'assimilation du CO_2 , augmentant en fonction du temps, lors de l'induction de la photosynthèse.
 - c) Aux effets des températures non optimales sur l'assimilation du CO_2 .
2. Comparer les taux d'assimilation du CO_2 obtenus sous différentes lumières sinusoïdales (différentes périodes et amplitudes) à celles obtenues sous lumière continue d'intensité équivalente (même quantité de photons).

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Matériel végétal et conditions de croissance

Les plantes utilisées dans nos expériences sont le tournesol (*Helianthus annuus*), la fève (*Vicia faba*), et le haricot (*Phaseolus vulgaris*). Les plantes ont été cultivées dans deux conditions différentes (conditions intérieures et extérieures). Les plantes d'intérieur ont été semées dans des pots contenant du Promix (Premier, QC) et placées dans une chambre de croissance, sous une photopériode de 16 h/8 h (lumière/obscurité). La température était de 23 °C/18 °C (jour/nuit), l'intensité lumineuse de 350 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et l'humidité autour de 70 %. Les plantes de l'extérieur ont été semées comme les plantes d'intérieur et placées (de juin à août 2011) sur le campus de l'UQTR dans des conditions de plein soleil et d'ombre dans une proportion d'environ 25 % et 75 % respectivement selon le moment de la journée. Toutes les plantes ont été arrosées régulièrement avec de l'eau (mélangée avec le fertilisant 20-20-20 de l'ordre d'une fois par semaine) pour éviter le stress hydrique.

2.2 Mesures de fluorescence et de l'assimilation de CO₂

La 3^e paire de feuilles des plantes âgées de 4 à 5 semaines ont été exposées aux différentes lumières émises par un panneau à diodes électro-luminescentes (DEL) de commandé par l'appareil Light Control (LC-100). En utilisant ce dispositif, des lumières sinusoïdales bleues de différentes périodes et amplitudes ont été générées (Figure 2.1). Au cours des mesures de FChl et d'assimilation de CO₂ (voir plus bas), les intensités lumineuses étaient mesurées en continu à l'aide d'un photomètre LI-COR connecté à un ordinateur via une carte d'acquisition de données ACQDAQ.



Figure 2.1 Light control (LC100) avec les diodes DEL : dispositif de commande et d'émission de la lumière.

Des mesures de fluorescence chlorophyllienne ont été faites avec l'appareil XE-PAM (Walz, Allemagne) (Figure 2.2). Avec cet appareil, les rendements quantiques sont calculés à chaque impulsion de saturation et les paramètres sont affichés comme suit : le $Y(II)$, $Y(NPQ)$ et $Y(NO)$. La somme de ces paramètres est toujours l'unité : $Y(II) + Y(NPQ) + Y(NO) = 1$.

Y_{II}	Rendement photochimique du PSII
Y_{NO}	Rendement de la dissipation non photochimique non-régulée de l'énergie perdue dans le PS II
Y_{NPQ}	Rendement de la dissipation non photochimique régulée de l'énergie perdue dans le PS II

Les paramètres de fluorescence ont été calculés tels que définis par Klughammer et Schreiber (2008) :

$$Y(II) + Y(NPQ) + Y(NO) = 1$$

$$Y(II) = \frac{(F_{m'} - F)}{F_{m'}} = \frac{\Delta F}{F_{m'}}$$

$$Y(NPQ) = \frac{F}{F_{m'}} - \frac{F}{F_m}$$

$$Y(NO) = \frac{F}{F_m}$$

Ces rendements quantiques décrivent le sort de l'énergie d'excitation dans le PS II et permettent de mieux comprendre la capacité des plantes à faire face aux excès de l'énergie d'excitation (Klughammer et Schreiber 2008).



Figure 2.2 XE-PAM (Pulse Amplitude Modulation): appareil de mesure de fluorescence.

En parallèle, le taux d'assimilation du CO_2 a aussi été mesuré. Les mesures ont été effectuées par un analyseur de gaz infrarouge portable (LCA-4, Analytical Development Company Ltd, Hoddesdon, Royaume-Uni). La feuille a été placée dans la chambre de mesure de l'échange gazeux de l'appareil sous une surface émettrice de lumière sinusoïdale par le protocole déjà décrit. De plus, pour faire varier la température dans cette chambre l'appareil « Leaf microclimate control system » a été utilisé (Figure 2.3).

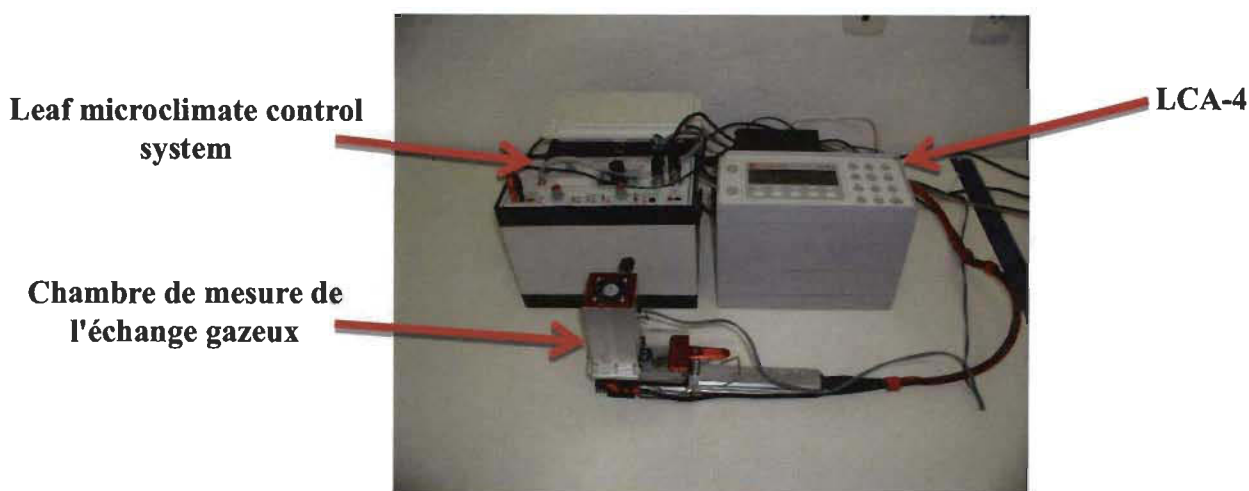


Figure 2.3 Appareils de mesure d'échange gazeux.

2.3 Protocole expérimental

Après avoir été placée à l'obscurité pendant 30-45 min, la feuille a été placée dans la chambre d'échange gazeux du LCA 4 sous le panneau de lumière DEL. Le protocole expérimental est divisé en 4 différentes parties. La première partie dure 120 s, au cours de laquelle une faible lumière pulsée non actinique ($< 1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a été appliquée pour déterminer le niveau minimal de fluorescence (F_0) suivi d'un flash saturant induisant ainsi le niveau maximal de fluorescence (F_m). F_0 et F_m sont utilisés pour calculer le rendement photosynthétique maximal (F_v/F_m). La deuxième partie était d'une durée de 90 min dans le but de bien laisser la plante de s'ajuster à la lumière sinusoïdale variant de 18 à $1110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, et d'une intensité moyenne de $545 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (sauf indication contraire). Cette partie est suivie d'une autre de 10 min de la même lumière sinusoïdale au cours de laquelle on a appliqué un flash saturant chaque 65 s afin d'évaluer F_m' le long des 5 périodes de 120 s qui constituent les 10 min. F_m' et F ont été utilisés pour calculer le rendement photosynthétique. Après 60 s de transition, pour passer de la lumière sinusoïdale à la lumière continue d'une intensité de $545 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ appliquée pendant 10 min. Toutes les données de fluorescence et d'intensités lumineuses de chaque essai ont été synchronisées et enregistrées grâce à une carte d'acquisition de données ACQDAQ et un logiciel développé au laboratoire.

2.4 Transformée rapide de Fourier

Afin de quantifier les amplitudes et les périodes des composantes formant les patrons complexes de fluorescence (la composante principale et les différentes harmoniques) induits sous lumière sinusoïdale (Figure 2.4), nous avons utilisé la méthode de la Transformée rapide de Fourier (FFT) par le logiciel MATLAB. Cette méthode permet de calculer la densité spectrale de puissance (Power) d'un signal échantillonné de durée finie, même s'il est périodique dans un périodogramme. Pour comparer les amplitudes (Power) des composantes estimées à partir des courbes de fluorescence, et ce pour chacune des périodes, les analyses ont été effectuées sur les valeurs d' Y_{NO} à la fin de la période de stabilisation dans le protocole expérimental (Figure 2.4). À l'aide du logiciel Matlab et par la méthode de la transformée rapide de Fourier, le patron est déconvolué pour avoir les amplitudes et les périodes qui forment ce patron complexe (Figure 2.5). Les pics de puissances (Power) correspondent aux valeurs du signal total se répétant à une période donnée.

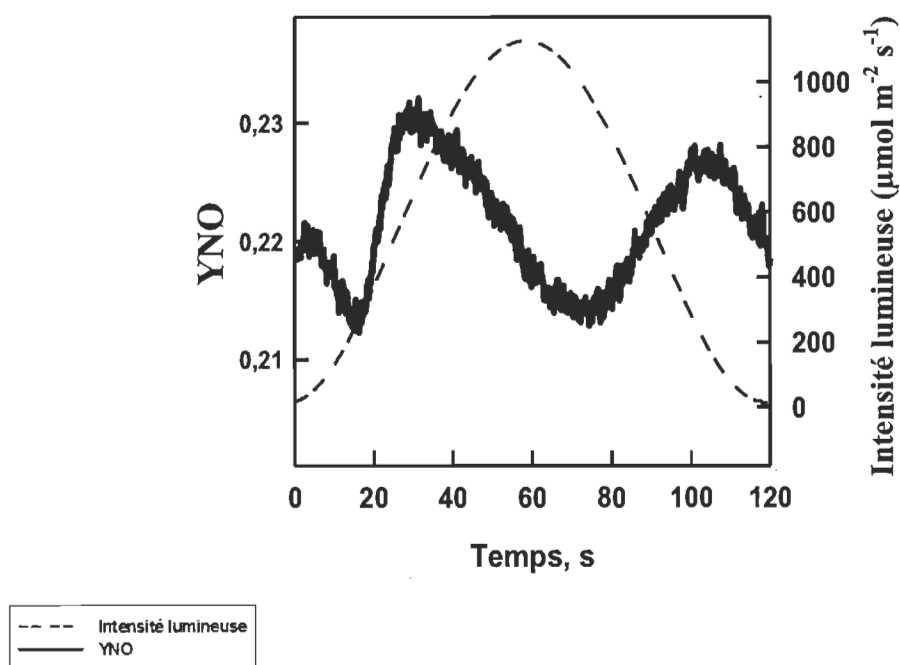


Figure 2.4 Patron de fluorescence chlorophyllienne induit sous lumière sinusoïdale de période 120 s pour le haricot intérieur.

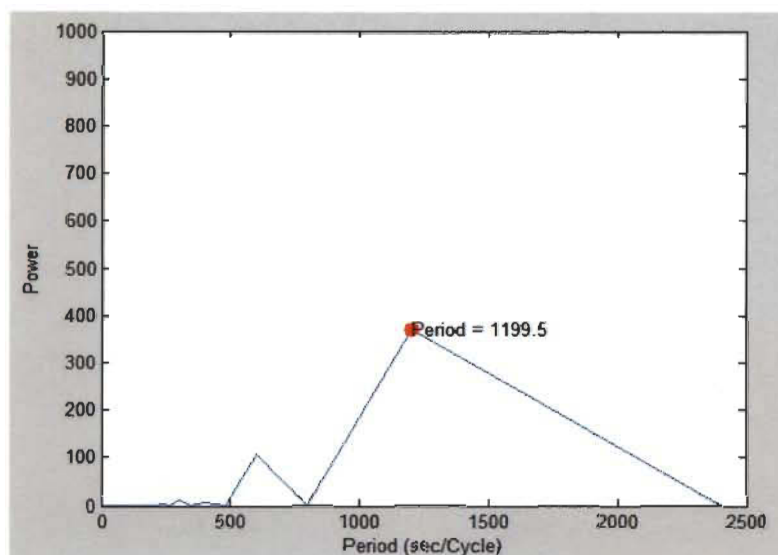


Figure 2.5 Périodogramme issu de la déconvolution du signal de fluorescence chlorophyllienne par le logiciel Matlab pour le haricot intérieur. (N.B. : Le temps de la période est multiplié par 10.)

2.5 Concentrations en chlorophylles

Pour mieux documenter les différences entre les feuilles des plantes d'intérieur et d'extérieur, nous avons fait l'extraction des chlorophylles. Deux cents mg de poids frais ont été placés dans 10 ml de méthanol 96 % à 4 °C pendant 48 h. Après filtration, les absorbances des extraits ont été mesurées avec un spectrophotomètre Spectronic Genesys 6 (Thermo Fisher Scientific). Les contenus ont été calculés selon les équations de Lichtenthaler (1987) et exprimés en mg/g PF.

$$\text{Chl } a = [(13,36 \times (A663) - 5,19 \times (A645)) \times 8,1] / \text{PF (mg Chl g}^{-1} \text{ PF)}$$

$$\text{Chl } b = [(27,43 \times (A645) - 8,12 \times (A663)) \times 8,1] / \text{PF (mg Chl g}^{-1} \text{ PF)}$$

$$\text{Chl } a + b = [(5,24 \times (A663) - 22,24 \times (A645)) \times 8,1] / \text{PF (mg Chls g}^{-1} \text{ PF)}$$

où : A645 : l'absorbance à 645 nm

A663 : l'absorbance à 663 nm

PF : le poids frais utilisé pour les mesures des chlorophylles.

2.6 Analyses statistiques

Dans le but de déterminer les facteurs qui influencent les valeurs obtenues dans l'ensemble de nos expériences, des modèles de régression multiples furent utilisés. Les facteurs indépendants de nos modèles étaient la période de temps (secondes), l'amplitude de l'intensité lumineuse ($\mu\text{moles photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$), la condition de croissance (intérieure ou extérieure), les températures (10, 25 et 40 °C) et l'ensemble des combinaisons possibles de ces facteurs. Le seuil de significativité fut établi à $P = 0,05$. Le logiciel utilisé pour les analyses statistiques est SYSTAT 11.0 (Statistical and Graphical Software).

CHAPITRE III

RÉSULTATS

3.1 Comparaison de l'amplitude des résonances aux taux d'assimilation du CO₂ chez trois espèces cultivées sous deux conditions de croissances (intérieur et extérieur)

3.1.1 Caractérisation des plantes

Afin de s'assurer avant le début des expériences, de l'absence de photoinhibition due à la croissance en plein soleil, ainsi que pour vérifier la présence de différences réelles entre les plantes de l'intérieur et celles de l'extérieur, des mesures des rendements quantiques maximums du PSII et les concentrations en chlorophylles ont été faites pour toutes les plantes utilisées dans nos expériences. Avant l'exposition à la lumière dynamique, c.-à-d. après adaptation pendant 30 min à l'obscurité, les rendements quantiques maximums du PSII (F_v/F_m) variaient entre 0,805 et 0,842 chez les feuilles des différentes espèces et conditions de croissance (Tableau 3.1). Malgré des différences entre les espèces, aucune différence significative ($p = 0,561$) n'a pu être associée aux conditions de croissance, indiquant l'absence de photoinhibition due à la croissance en plein soleil. Au niveau des concentrations en chlorophylles, les différences selon la condition de croissance sont fortement significatives ($p = 0.000$). Les concentrations en Chl ($a + b$) sur une base de poids frais sont plus élevées chez les plantes d'intérieur : $1,64 \pm 0,002$ mg/g PF, $1,09 \pm 0,021$ mg/g PF et $2,13 \pm 0,032$ mg/g PF pour la fève, le haricot et le tournesol, respectivement, tandis que celles cultivées à l'extérieur ont des valeurs de $1,11 \pm 0,073$ mg/g PF, $0,6 \pm 0,01$ mg/g PF et $1,4 \pm 0,01$ mg/g PF pour les plantes de l'extérieur pour la fève, le haricot et le tournesol respectivement (Tableau 3.1).

Tableau 3.1

Valeurs moyennes du rendement quantique maximal du PSII (Fv/Fm) et de la concentration en chlorophylles des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur)

	Fève		Haricot		Tournesol	
	Extérieur	Intérieur	Extérieur	Intérieur	Extérieur	Intérieur
Fv/Fm	0,825 ± 0,003	0,805 ± 0,002	0,821 ± 0,003	0,812 ± 0,004	0,828 ± 0,005	0,842 ± 0,007
Concentration en chlorophylle (a + b) (mg/g PF)	1,11 ± 0,073	1,64 ± 0,002	0,60 ± 0,01	1,1 ± 0,021	1,40 ± 0,01	2,13 ± 0,032

3.1.2 Patrons de fluorescence chlorophyllienne sous lumière sinusoïdale

Les trois espèces cultivées dans des conditions intérieures et extérieures ont été exposées pendant 90 minutes à une lumière sinusoïdale d'une période de 120 s et oscillant entre 0 et 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Les émissions de la fluorescence ont été mesurées et normalisées en Y(NO) (Ft/Fm), soit le rendement quantique de la dissipation non photochimique non régulée (Klughammer et Schreiber 2008). La Figure 3.1 présente les patrons de fluorescence enregistrés en fonction du temps sous une lumière sinusoïdale lors des trois dernières périodes du cycle expérimental. Pour les plantes de l'extérieur, les patrons de fluorescence semblent plus complexes que ceux des plantes de l'intérieur (sauf pour la fève). En effet, ils s'éloignent le plus du simple patron sinusoïdal de la lumière incidente. Pour ces plantes, les patrons de YNO présentent deux maximums, l'un au début (avant le maximum de la lumière incidente à 0,5 de la période) et l'autre vers la fin de la période de la lumière incidente. Pour le haricot et le tournesol d'intérieurs, les patrons YNO sont moins complexes. Ils atteignent leur maximum près du maximum de la lumière incidente et diminuent vers la fin de la période de la lumière incidente. La fève intérieure présente un patron YNO nettement différent des autres plantes. Le patron de fluorescence présente un pic étroit à environ 25 % de la période, soit bien avant que la lumière incidente atteigne son maximum.

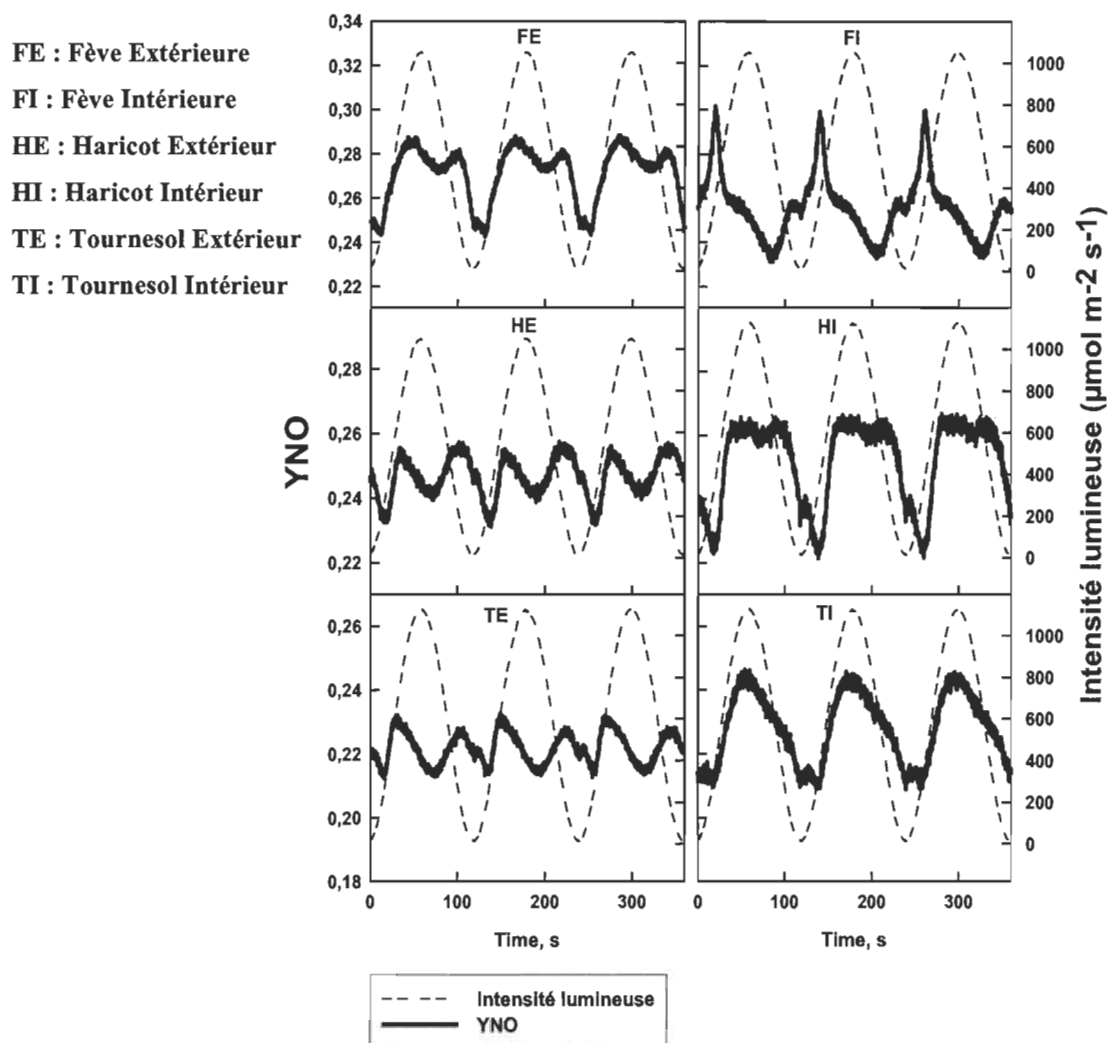


Figure 3.1 Courbes de fluorescence chlorophyllienne induite sous lumière sinusoïdale de période 120 s des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur).

Pour mieux décrire les patrons complexes de fluorescence, ceux-ci peuvent être décomposés en leurs différentes composantes périodiques et ensuite analysés selon les amplitudes de ces composantes. En effet, tel que démontré précédemment (Nedbal et Brezina 2002; Bonin et al. en préparation), les patrons complexes de fluorescence induits sous lumière sinusoïdale sont la somme d'une composante principale CP (ayant la même période que la lumière incidente) et de plusieurs harmoniques (dont les périodes sont des fractions décroissantes de la CP : $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$, ...). Les amplitudes de ces

composantes (CP et harmoniques) ont été estimées suite à la déconvolution par transformée rapide de Fourier des patrons de fluorescence, à l'aide du logiciel Matlab.

Tout d'abord, les résultats montrent que les amplitudes de la CP sont plus élevées chez les plantes de l'intérieur que celles de l'extérieur (Figure 3.2). Les différences sont hautement significatives ($p = 0,000$). Les valeurs de ces amplitudes sont pour les plantes de l'intérieur 41,76, 28,89 et 27,05 pour les fèves, les haricots et les tournesols, respectivement tandis que chez les plantes de l'extérieur, ces valeurs sont de 25,84, 11,32 et 13,93 pour les mêmes espèces (Figure 3.2).

FE : Fève Extérieure
 FI : Fève Intérieure
 HE: Haricot Extérieur
 HI : Haricot Intérieur
 TE : Tournesol Extérieur
 TI : Tournesol Intérieur

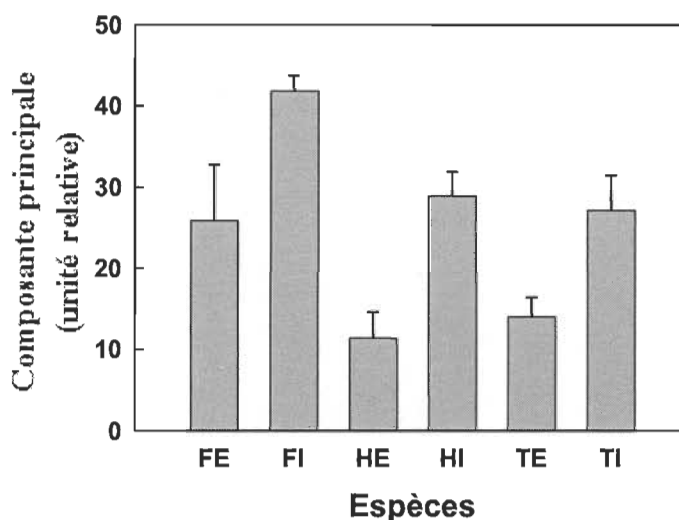


Figure 3.2 Composante principale, des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur).

Contrairement aux amplitudes de la CP, celles des harmoniques sont significativement ($p = 0,014$) supérieures chez les plantes de l'extérieur en comparaison avec celles de l'intérieur. La somme des amplitudes des harmoniques est de 26,03 et 15 (unité relative) pour les fèves et les tournesols de l'intérieur, alors que ces valeurs sont de 21,11 et 9,9 pour ces mêmes espèces cultivées à l'extérieur. Quant au haricot, ces valeurs sont proches dans les deux conditions de croissance (Figure 3.3).

FE : Fève Extérieure
 FI : Fève Intérieure
 HE : Haricot Extérieur
 HI : Haricot Intérieur
 TE : Tournesol Extérieur
 TI : Tournesol Intérieur

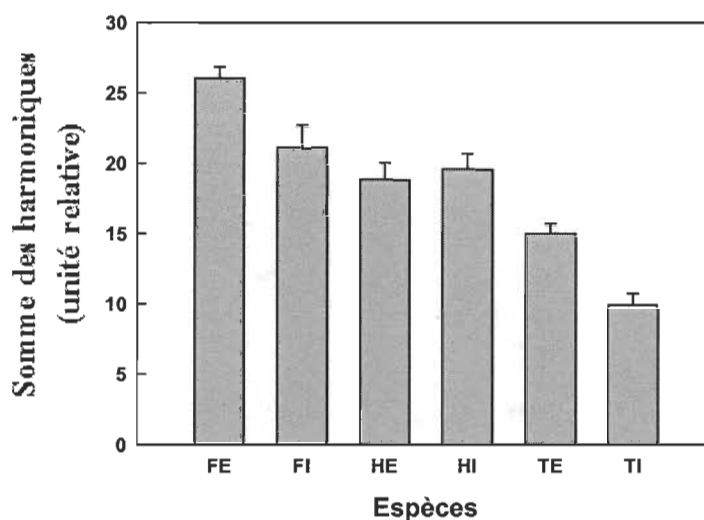


Figure 3.3 Somme des harmoniques des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance.

Puisque les amplitudes des CP et des harmoniques sont calculées à partir des valeurs de YNO, qui elles-mêmes sont dépendantes des réactions photochimiques et de dissipation régulée de l'énergie (car $YNO + YII + YNPQ = 1$), nous proposons de normaliser les amplitudes de la somme des harmoniques par celles de la CP (ratio $\frac{\Sigma H}{CP}$) afin de mieux estimer la résonance de l'appareil photosynthétique (Figure 3.4). L'analyse de variance indique que les différences sont significatives entre les conditions de croissance ($p = 0,003$). Ce ratio est plus élevé chez les plantes de l'extérieur de l'ordre de 1,47, 1,81 et 1,57 (unité relative) pour les fèves, de haricots et de tournesol, respectivement que chez les plantes de l'intérieur avec des valeurs de 0,52, 0,89 et 0,32 (unité relative) pour les mêmes espèces suivant la même disposition (Figure 3.4). D'après ces résultats, on peut dire que les plantes de l'extérieur résonnent plus que celles de l'intérieur.

FE : Fève Extérieure
 FI : Fève Intérieure
 HE : Haricot Extérieur
 HI : Haricot Intérieur
 TE : Tournesol Extérieur
 TI : Tournesol Intérieur

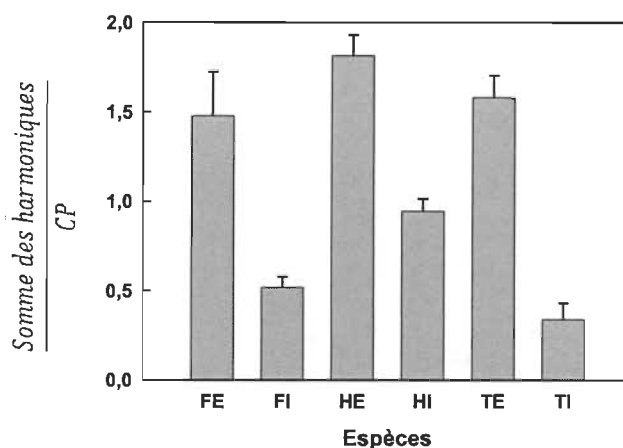


Figure 3.4 Rapport de la somme des harmoniques normalisée par la composante principale, des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur).

3.1.3 Rendement quantique du PSII (YII) et le Quenching non photochimique (YNPQ)

Les patrons complexes de fluorescence demeurent difficiles à interpréter, même après leur déconvolution en CP et harmoniques. Donc, pour mieux comprendre la dynamique interne de la photosynthèse et dans le but d'investiguer l'apparition des résonances dans le signal de la FChI, les rendements quantiques du PSII (YII) et du quenching non photochimique régulé (YNPQ) ont été calculés au cours d'une période complète (120 s) de la lumière sinusoïdale incidente. Le traçage des courbes de tendance de YII au cours d'une période d'illumination nous a permis de voir des variations déphasées par rapport à l'intensité lumineuse. Chez toutes les espèces sauf pour la fève intérieure, le maximum pour YII s'observe à environ 0,3 de la période d'illumination alors que le minimum est atteint aux alentours de 0,8 de la période d'illumination (Figure 3.5). Il y a donc un décalage de 24 à 36 s entre les pics de YII et ceux de la PFD incidente. Quant au YII de la fève intérieure, il varie en tout temps de façon inverse la lumière incidente, et montre donc un minimum à 0,5 de la période d'illumination (Figure 3.5).

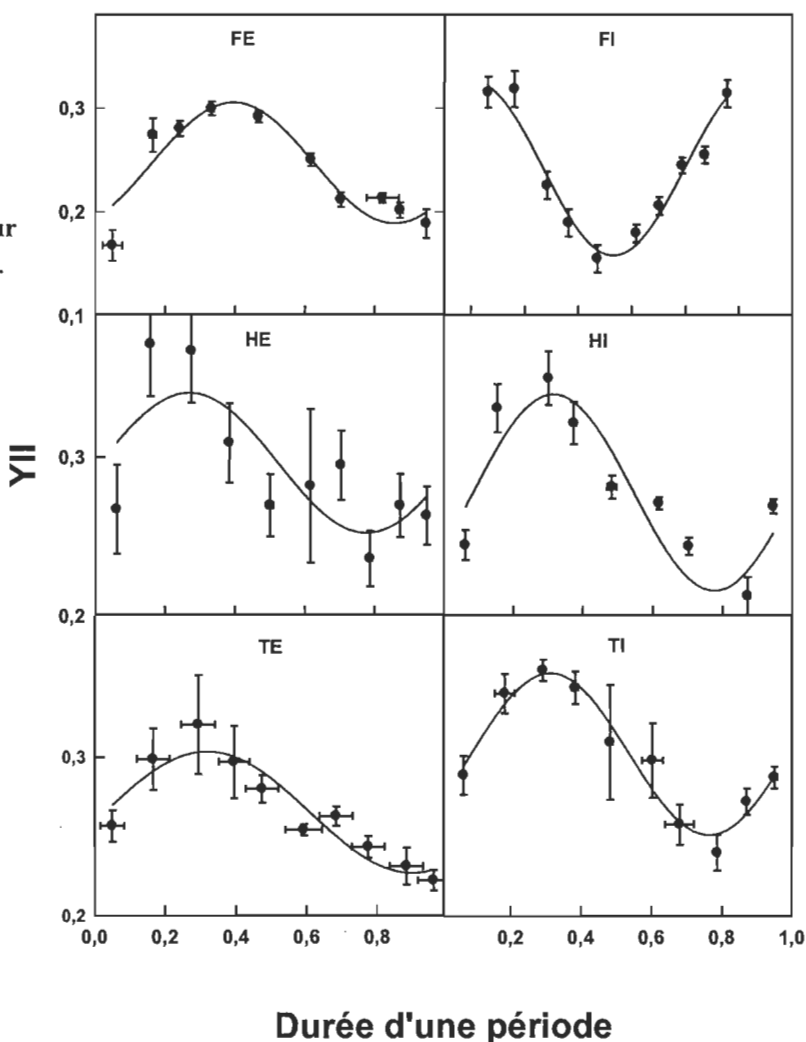


Figure 3.5 Courbes de tendance de l'évolution de Y (II) au cours d'une durée d'une période de 120 s.

YNPQ varie de façon inverse par rapport à YII. Il présente donc les mêmes variations déphasées par rapport à l'intensité lumineuse au cours d'une période de la lumière sinusoïdale. Chez toutes les espèces sauf pour la fève intérieure le minimum pour YNPQ vient entre 0,3 à 0,4 de la période d'illumination alors que le maximum vient aux alentours de 0,8 de la période d'illumination (Figure 3.6). Le comportement de YNPQ de la fève intérieure est directement relié à la lumière incidente, dont le maximum est à 0,5 de la période d'illumination (Figure 3.6).

FE : Fève Extérieure
 FI : Fève Intérieure
 HE : Haricot Extérieur
 HI : Haricot Intérieur
 TE : Tournesol Extérieur
 TI : Tournesol Intérieur

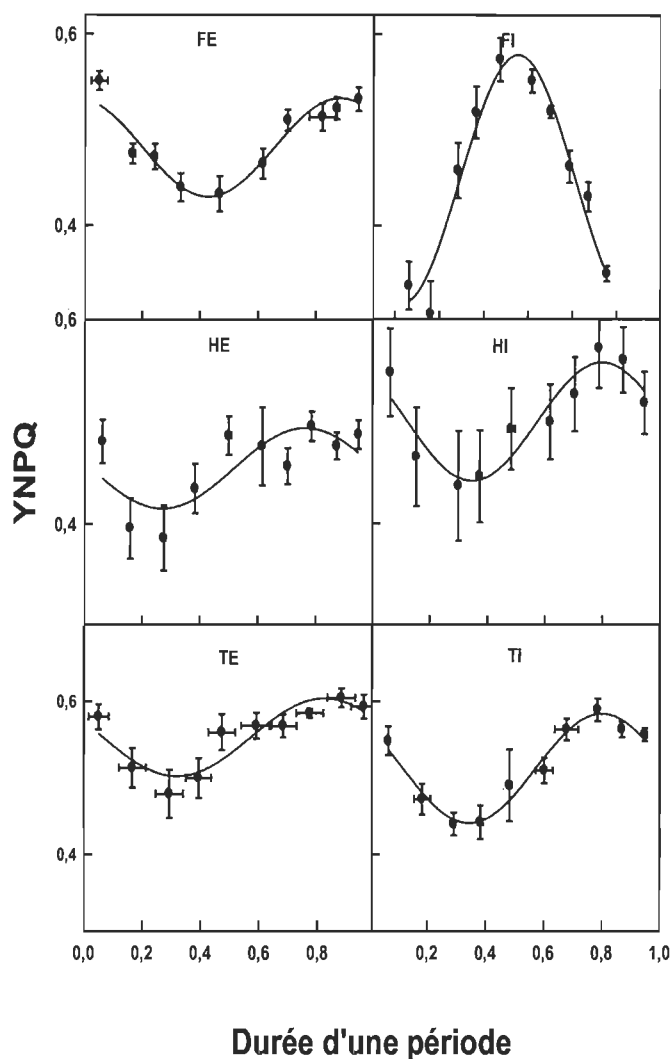


Figure 3.6 Courbes de tendance de l'évolution de $Y(NPQ)$ au cours d'une durée de période de 120 s.

Les figures 3.5 et 3.6 montrent des variations importantes de Y_{II} et Y_{NPQ} au cours d'un cycle de lumière sinusoïdale. Pour voir la présence ou non de différences globales entre les valeurs de Y_{II} et Y_{NPQ} des différentes espèces et conditions de croissance, les moyennes de celles-ci durant un cycle de lumière sinusoïdale ont été calculées (Tableau 3.2). L'analyse de variance indique que les différences dues aux conditions de croissances sont non significatives ($p_{Y_{II}} = 0,173$, $p_{Y_{NPQ}} = 0,68$).

Tableau 3.2

YII et YNPQ moyens mesurés lors d'un cycle d'une période de lumière sinusoïdal des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur)

	Fève		Haricot		Tournesol	
	Extérieur	Intérieur	Extérieur	Intérieur	Extérieur	Intérieur
Y(II) moyen	0,23 ± 0,05	0,29 ± 0,08	0,3 ± 0,04	0,27 ± 0,01	0,27 ± 0,03	0,25 ± 0,06
YNPQ moyen	0,49 ± 0,04	0,45 ± 0,1	0,45 ± 0,04	0,5 ± 0,05	0,55 ± 0,04	0,51 ± 0,05

3.1.4 Résonances et taux de photosynthèse

Un des objectifs de ce mémoire était d'identifier si possible la signification physiologique des oscillations complexes de la FChl (YNO et ses résonances) induites sous une lumière sinusoïdale en comparant leurs amplitudes aux taux d'assimilation du CO₂. Les taux d'assimilation du CO₂ pour les 3 espèces et dans les deux conditions de croissance ont donc été mesurés simultanément aux mesures de YNO sous lumière sinusoïdale (période 120 s, amplitude de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). De plus, à la fin de cette lumière sinusoïdale, les feuilles ont été exposées pendant 10 min à une lumière continue d'une intensité équivalente (545 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Pour des exigences expérimentales dues au matériel utilisé, la lumière sinusoïdale oscille entre 18 et 1110 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ donc l'intensité moyenne enregistrée est aux alentours de 545 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (sauf indication contraire). Les résultats sont présentés dans les Figures 3.7A et 3.7B. Pour les trois espèces, les taux d'assimilation du CO₂ sous une lumière continue étaient toujours plus élevés que sous une lumière sinusoïdale.

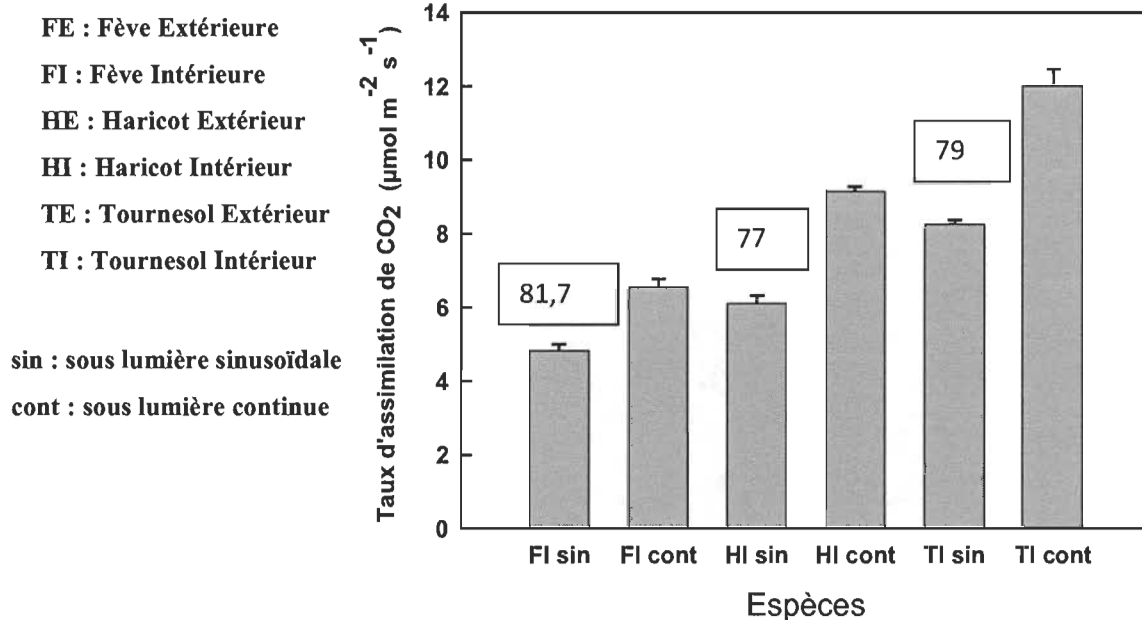


Figure 3.7A Comparaison au niveau du taux d'assimilation de CO₂ des plantes cultivées dans la chambre de croissance sous une lumière sinusoïdale et continue.

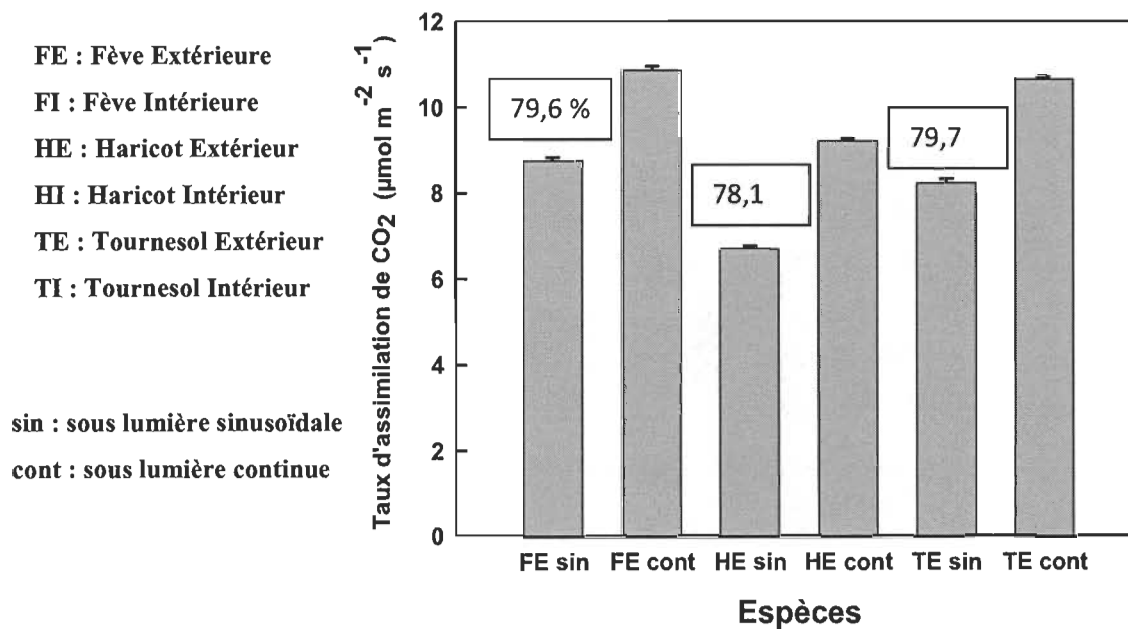


Figure 3.7B Comparaison au niveau du taux d'assimilation de CO₂ des plantes cultivées dans les conditions de l'extérieur sous une lumière sinusoïdale et continue.

Il est intéressant de constater que le pourcentage du taux brut d'assimilation du CO₂ sous lumière sinusoïdale par rapport au rayonnement continu est à peu près le même chez toutes les espèces, quelle que soit la condition de croissance (79 %, 81 %, 78,4 %, 77 %, 79,4 % et 78,7 %, une moyenne de 79 %) (Figures 3.7A et 3.7B). Ainsi, les plus fortes résonances ($\frac{\Sigma H}{CP}$) mesurées chez les plantes d'extérieur ne peuvent être corrélées à des différences d'efficacité photosynthétique sous lumière sinusoïdale relatives à celle sous lumière continue. De plus, les différentes valeurs de $\frac{\Sigma H}{CP}$ (Figure 3.4) mesurées pour les trois espèces ne peuvent être corrélées aux valeurs correspondantes du taux brut d'assimilation du CO₂.

3.2 Comparaison des amplitudes des oscillations aux taux d'assimilation du CO₂, augmentant en fonction du temps, lors de l'induction de la photosynthèse

Dans cette sous-section, nous tentons toujours d'établir la signification physiologique des oscillations de la FChl (YNO) et des résonances induites sous une lumière sinusoïdale en comparant cette fois les amplitudes de la composante principale et des harmoniques issues du signal de fluorescence à l'augmentation des taux d'assimilation du CO₂ augmentant en fonction du temps lors de l'induction de la photosynthèse. Lorsque des feuilles maintenues à l'obscurité pendant plusieurs minutes ou heures sont soudainement éclairées, le taux d'assimilation de CO₂ augmente plus ou moins lentement au cours de l'induction de la photosynthèse. Au cours de cette phase, il y a ouverture des stomates, activation de la RUBISCO et autres enzymes du cycle de Calvin ainsi que l'induction du quenching non photochimique. Donc comment varie le signal de fluorescence (CP, et harmoniques) au cours de cette phase et y a-t-il une relation entre les amplitudes de CP et les harmoniques avec le taux d'assimilation de CO₂ au cours de cette phase?

Les feuilles des trois espèces ont été exposées à la lumière sinusoïdale suivant le protocole décrit dans la partie « matériels et méthodes ». Les valeurs des taux d'assimilation de CO₂ au cours de l'induction avec leurs courbes de régression sont

présentées à la Figure 3.8. Ces courbes de régression ont été calculées selon l'équation empirique décrivant l'induction photosynthétique : $\dot{A} = A_{\max}(1 - e^{-bt})$ où A_{\max} est le taux maximal d'assimilation de CO_2 pour la lumière incidente ($500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), b est l'inverse du temps requis pour atteindre 63 % de A_{\max} ($b = \frac{1}{t}$) (Cui et al. 2009). Pour les plantes de l'extérieur (respectivement pour la fève, le haricot et le tournesol), les temps requis pour atteindre 63 % de A_{\max} sont de 667, 556 et 476 s alors qu'ils sont de 250, 455, et 400 s pour les plantes de l'intérieur (respectivement pour la fève, le haricot et le tournesol). Ces résultats indiquent donc que l'induction est plus rapide chez les plantes de l'intérieur que celle des plantes de l'extérieur (voir Discussion).

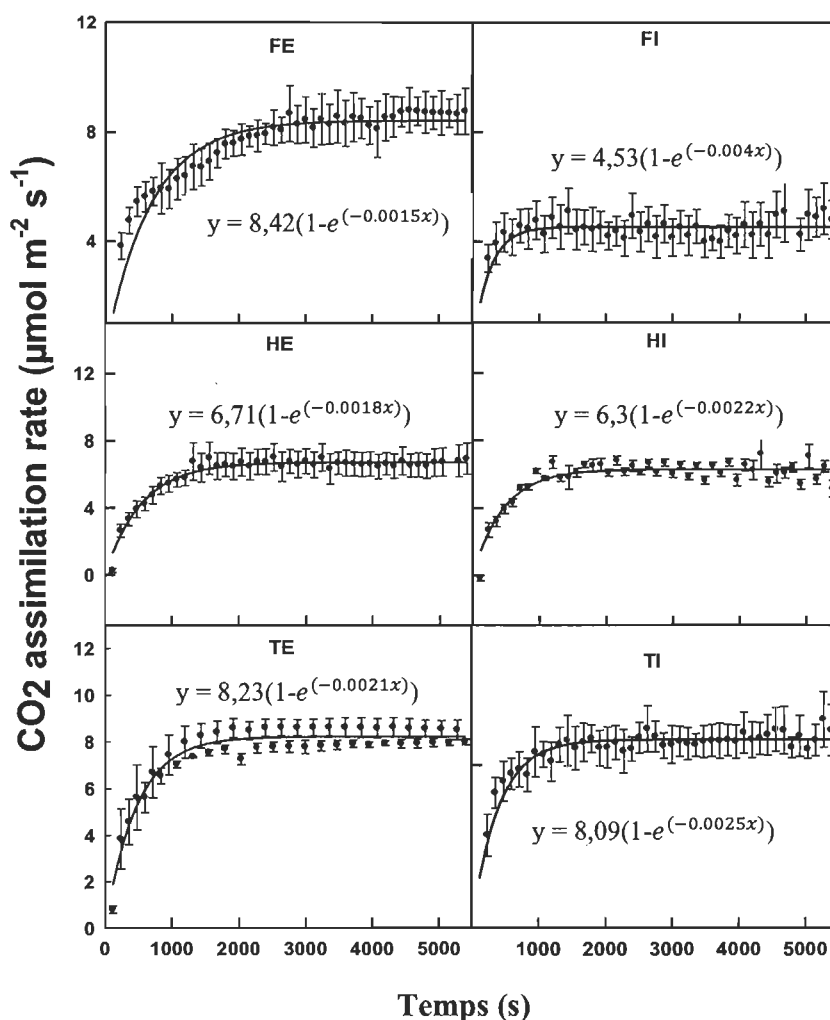


Figure 3.8 Courbes de tendance de l'évolution du taux d'assimilation de CO_2 au cours du temps des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur) sous une lumière sinusoïdale.

Pour mieux comparer les variations des amplitudes de la CP et celles des harmoniques au taux brut d'assimilation de CO_2 au cours de l'induction de la photosynthèse, nous avons tracé les courbes de corrélation linéaire entre ces amplitudes en fonction du degré d'induction ($\text{ACO}_2/\text{A}_{545}$). Les équations des courbes de tendance ainsi que le coefficient de corrélation de ces courbes sont présentés dans le Tableau 3.3. Les amplitudes de la composante principale diminuent chez toutes les plantes de l'extérieur au cours de l'induction, avec des pentes négatives de -42,5, -47,6 et -31,1 respectivement pour la fève, le haricot et le tournesol. Pour les plantes de l'intérieur, la composante principale diminue pour la fève, mais demeure pratiquement constante pour le haricot et le tournesol avec des pentes de -33,8, 4,06 et -5,7 respectivement pour ces trois espèces. Globalement, ces pentes sont nettement inférieures à celles des plantes de l'extérieur. Donc, la CP diminue plus au cours de l'induction photosynthétique pour les plantes d'extérieur que pour les plantes d'intérieur.

Pour ce qui est de la somme des amplitudes des harmoniques, aucune tendance nette ne se dégage, diminuant, ou restant stable ou même augmentant selon les espèces. Cependant, il semble que globalement, la somme des amplitudes des harmoniques diminue davantage au cours de l'induction chez les plantes d'intérieur que chez les plantes d'extérieur : les pentes sont de l'ordre de 0,08, 6,67 et -25,1 respectivement pour la fève, le haricot et le tournesol de l'extérieur et de -24,2, 1,5 et -18,9 respectivement pour la fève, le haricot et le tournesol intérieur.

Tableau 3.3

Équation et coefficient de corrélation des courbes de tendance de la composante principale (CP) ainsi que la somme des harmoniques lors de l'induction de la photosynthèse des plantes cultivées dans les deux conditions de croissance (intérieur et extérieur)

	Fève		Haricot		Tournesol	
	Extérieur	Intérieur	Extérieur	Intérieur	Extérieur	Intérieur
CP	$y = -42,5x + 34,1$ ($R^2 = 0,62$)	$y = -33,8x + 44$ ($R^2 = 0,4$)	$y = -47,6x + 30,8$ ($R^2 = 0,873$)	$y = 4x + 12,2$ ($R^2 = 0,02$)	$y = -31,1x + 22,6$ ($R^2 = 0,78$)	$y = -5,7x + 19,6$ ($R^2 = 0,04$)
Somme des harmoniques	$y = 0,08x + 19,3$ ($R^2 = 2E-05$)	$y = -24,2x + 36,2$ ($R^2 = 0,64$)	$y = 6,6x + 14$ ($R^2 = 0,385$)	$y = 1,5x + 16$ ($R^2 = 0,04$)	$y = -25,1x + 26$ ($R^2 = 0,86$)	$y = -19x + 17,1$ ($R^2 = 0,9$)

3.3 Comparaison des amplitudes des oscillations aux taux d'assimilation du CO₂, augmentant en fonction du temps, sous l'effet des températures non-optimales (10 °C, 25 °C et 40 °C)

Toujours pour mieux investiguer si les résonances existantes dans le signal de YNO peuvent traduire le comportement dynamique de la photosynthèse, des mesures de YNO et des taux bruts de photosynthèse sous lumière sinusoïdale ont été faites sur des plantes de tournesol intérieur sous trois températures : 10 °C, 25 °C et 40 °C. La Figure 3.9 présente les patrons de fluorescence enregistrés en fonction du temps sous une lumière sinusoïdale lors des trois dernières périodes du cycle expérimental pour les trois températures. Pour les trois températures, le patron de fluorescence suit l'allure générale de l'intensité lumineuse, mais avec des différences notables : la complexité du signal, c.-à-d. la différence entre le patron de YNO et la courbe de l'intensité lumineuse augmente selon l'ordre suivant des températures : 10 °C, 40° et 25 °C. Dans tous les cas, le pic YNO est observé avant le maximum de l'intensité lumineuse. À 40 °C, il y a un « épaulement » au $\frac{2}{3}$ du cycle. Cet épaulement apparaît comme un 2^e pic distinct à 25 °C.

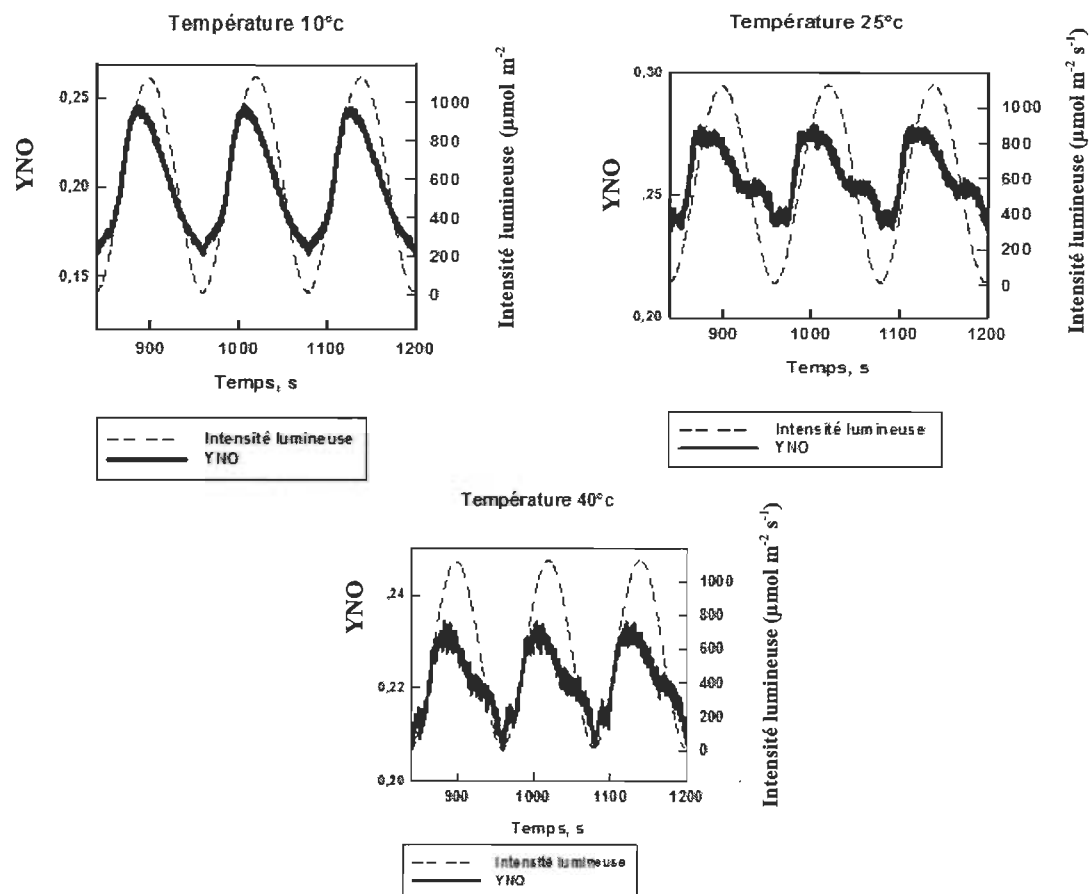


Figure 3.9 Courbes de fluorescence chlorophyllienne induite sous lumière sinusoïdale de période 120s pour les températures 10, 25 et 40 °C chez le tournesol intérieur.

La déconvolution du signal de YNO par la méthode de la transformée rapide de Fourier permet de confirmer les différences entre les patrons mentionnés plus haut. Les résultats ont montré que la composante principale à 10 °C (67,57) est nettement supérieure que celles aux températures 25 °C et 40 °C (27,25 et 16,23 respectivement) (Figure 3.10). Les différences sont hautement significatives ($p = 0,000$).

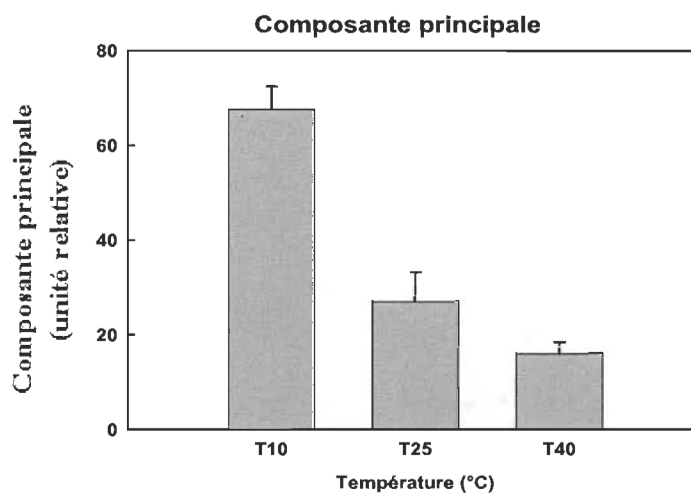


Figure 3.10 Composante principale pour les trois températures (10, 25 et 40 °C) chez le tournesol intérieur.

Quant à la somme des harmoniques, elle est plus élevée pour les températures 10 °C et 25 °C (19,1 et 18,94 unité relative) respectivement, en comparaison avec celle à 40 °C (7,74) (unité relative) (Figure 3.11). Les différences sont significatives ($p = 0,026$).

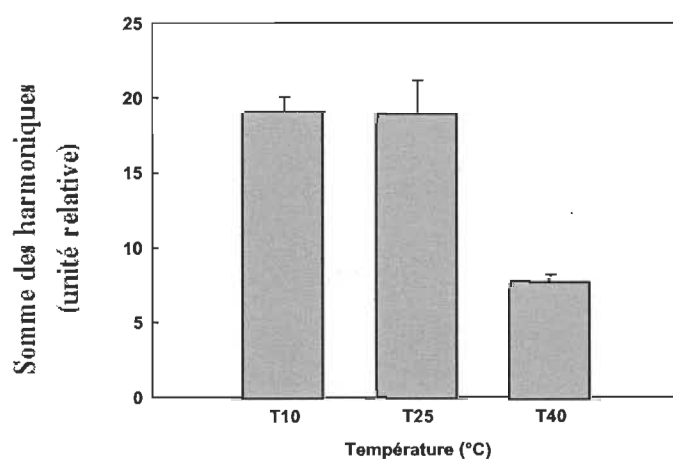


Figure 3.11 Somme des harmoniques pour les trois températures (10, 25 et 40 °C) chez le tournesol intérieur.

Encore pour mieux décrire la résonance dans les patrons de YNO, le rapport $\frac{\Sigma H}{CP}$ a été utilisé. Des valeurs pour ce ratio de 0,28, 0,69 et 0,47 (unité relative) ont été

calculées respectivement pour les températures 10 °C, 25 °C et 40 °C (Figure 3.12). Les différences avec la température 10 °C sont significatives ($p = 0,003$ et $p = 0,69$ respectivement pour les températures 25 °C et 40 °C), alors qu'elle est non significative pour les températures 25 °C et 40 °C ($p = 0,156$).

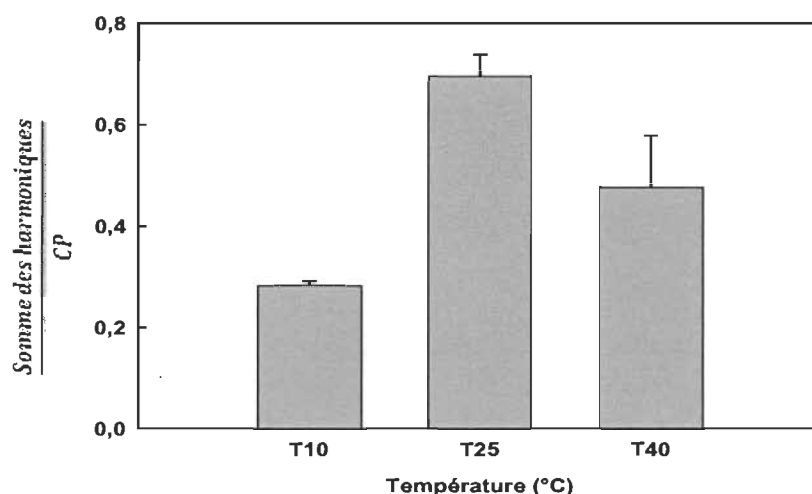


Figure 3.12 Rapport de la somme des harmoniques par la composante principale pour les trois températures (10, 25 et 40 °C) chez le tournesol intérieur.

Dans le même objectif que les expériences précédentes, c.-à-d. d'établir la signification physiologique des résonances de YNO sous lumière sinusoïdale, les taux d'assimilation du CO₂ ont été mesurés simultanément à la fluorescence pour les trois températures. Le taux ACO₂ est plus élevé à la température 25 °C ($6,75 \pm 0,28 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) qu'aux températures 10 °C et 40 °C ($5,31$ et $1,74 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectivement) (Figure 3.13). Les différences entre les températures sont significatives ($p = 0,000$). On remarque que la température élevée a davantage diminué le taux de photosynthèse et la somme des harmoniques, tandis que la basse température a augmenté surtout l'amplitude de la composante principale. Le ratio $\frac{\Sigma H}{CP}$ semble mieux corrélé aux taux ACO₂ pour les différentes températures testées.

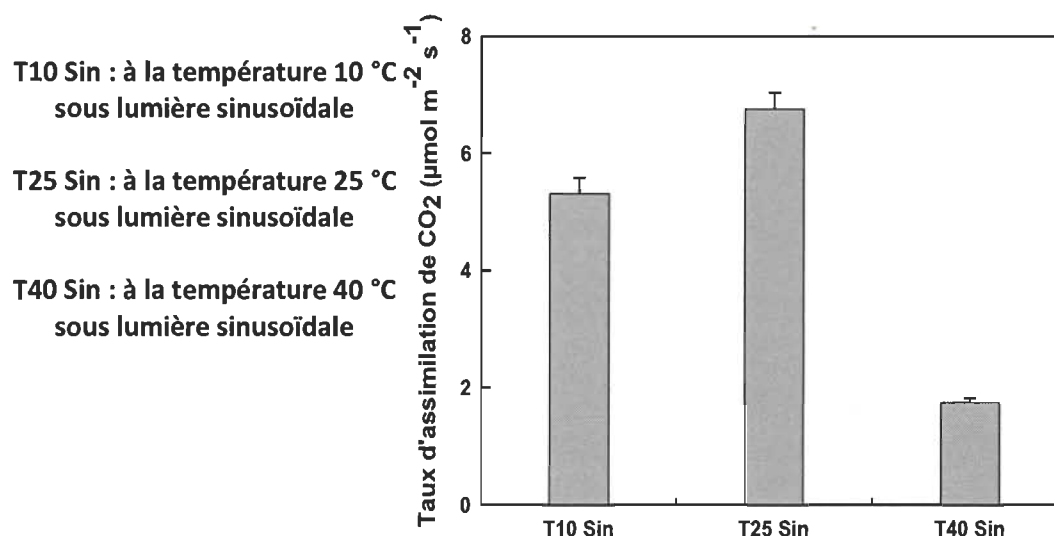


Figure 3.13 Taux bruts de photosynthèse pour les trois températures (10, 25 et 40 °C) sous une lumière sinusoïdale chez le tournesol intérieur.

3.4 Comparaison des taux d'assimilation du CO₂ obtenus sous différentes lumières sinusoïdales (différentes périodes et amplitudes) à ceux obtenus sous lumière continue d'intensité équivalente (même quantité de photons)

Dans le but général de mieux comprendre l'efficacité de la photosynthèse sous lumière dynamique, la deuxième partie expérimentale de ce projet de maîtrise vise plus spécifiquement à caractériser comment varient les taux d'assimilation du CO₂ obtenus sous différentes lumières sinusoïdales (différentes périodes et amplitudes) et continues d'intensités équivalentes (même quantité de photons). D'après le travail mené par Bonin.L (déjà présenté dans le chapitre introduction et revue de littérature), les amplitudes de la CP et des harmoniques augmentaient avec l'amplitude des lumières sinusoïdales et tandis que l'augmentation de la période des lumières sinusoïdales diminuait les amplitudes de la CP, sans affecter celles des harmoniques. Cependant, ces effets des différentes lumières sinusoïdales sur les oscillations complexes de YNO n'ont pas été comparés aux variations d'efficacité d'assimilation de CO₂.

Nous avons donc mesuré dans un premier temps les taux d'ACO₂ sous lumières sinusoïdales oscillant entre 0 et 1000 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (intensité équivalente de 545 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de différentes périodes allant de 5 à 240 s. La courbe de ACO₂ en fonction de la période de la lumière sinusoïdale (Figure 3.14) montre que ACO₂ diminue lorsque la période d'illumination augmente : à une période de 240 s, ACO₂ correspond à environ 50 % de celui mesuré sous lumière continue.

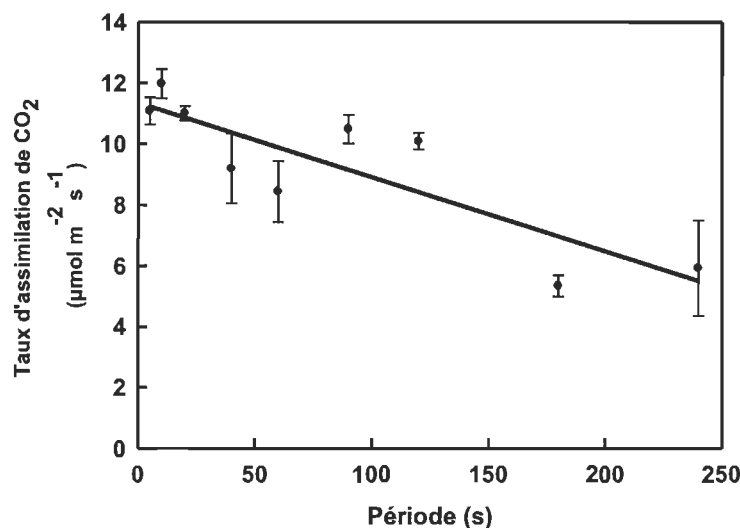


Figure 3.14 Taux d'assimilation de CO₂ en fonction de la période de la lumière sinusoïdale oscillant entre 0 et 1000 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Intensité équivalente de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Les résultats précédents indiquent que ACO₂ diminue avec l'augmentation de la période de la lumière sinusoïdale oscillant entre 0 et 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Pour déterminer l'importance de l'amplitude de la lumière sinusoïdale sur cette relation, des courbes de tendance des courbes de saturation lumineuse ont été construites en utilisant une lumière continue d'intensités croissantes et en utilisant des lumières sinusoïdales de périodes de 20 et 120 sèches, mais d'amplitudes croissantes. Les résultats (Figure 3.15) montrent que la lumière continue (ligne continue) génère des taux de ACO₂ égaux ou supérieurs à ceux générés par les lumières sinusoïdales de période 20 (tirets) et 120 (ligne pointillée) secondes. En fait, les différences augmentent avec l'augmentation de l'intensité lumineuse moyenne : ACO₂ diminue avec la période telle qu'observée à la Figure 3.14. Ainsi, aucune différence de ACO₂ due à la période n'a été détectée à de faibles intensités

lumineuses. Ceci est démontré en comparant les pentes initiales des trois courbes présentées dans les figures 3.16, 3.17 et 3.18 $\frac{\mu\text{mol de CO}_2}{\mu\text{mol de photons}}$ pour respectivement la lumière continue, la lumière sinusoïdale de période 20s et la lumière sinusoïdale de période 120 s. Les pentes sont similaires avec des valeurs de 0,034, 0,047 et 0,03 $\frac{\mu\text{mol de CO}_2}{\mu\text{mol de photons}}$ (et des coefficients de corrélation de 0,8, 0,92 et 0,84) pour respectivement la lumière continue, la lumière sinusoïdale de période 20s et celle de période 120 s.

En bref, la perte de l'efficacité de la lumière sinusoïdale par rapport à la lumière continue augmente avec la période et avec l'amplitude des oscillations de l'intensité de la lumière sinusoïdale. Ceci suggère que les limitations sont plutôt de natures biochimiques et plutôt que photochimiques.

Courbe de saturation lumineuse

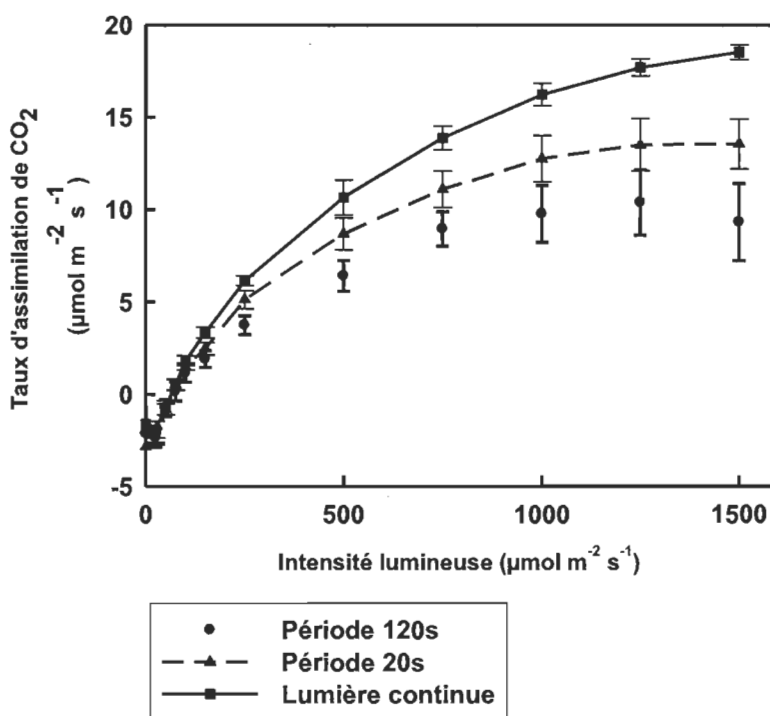


Figure 3.15 Courbe de tendance des courbes de saturation lumineuse faite sous une lumière continue et lumière sinusoïdale (P20 s et P120 s).

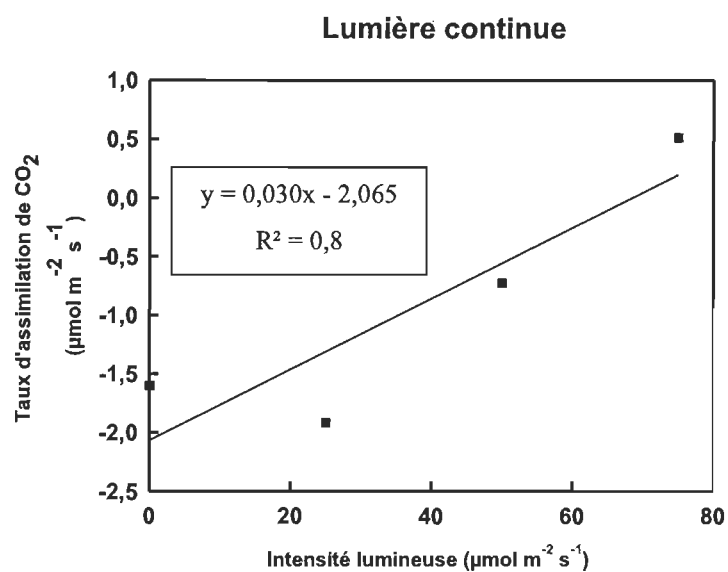


Figure 3.16 Pente initiale de la courbe de saturation lumineuse faite sous une lumière continue.

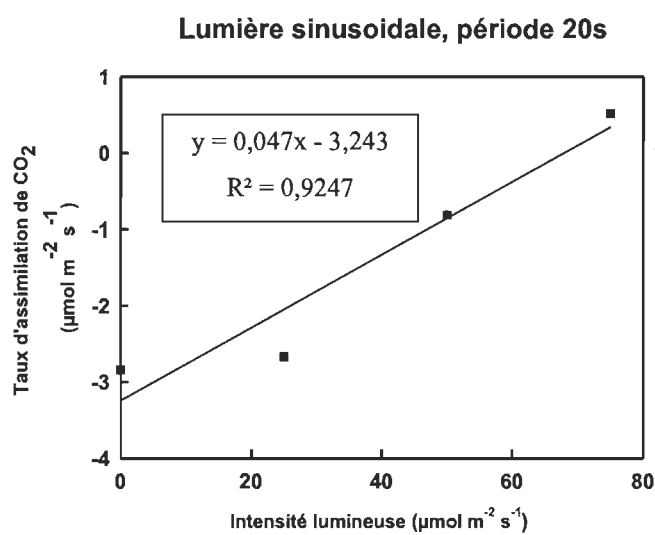


Figure 3.17 Pente initiale de la courbe de saturation lumineuse faite sous une lumière sinusoïdale de période 20 s.

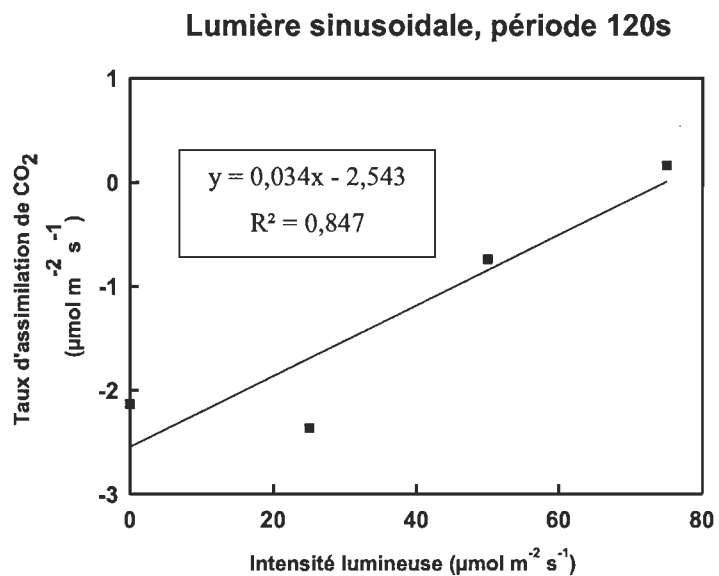


Figure 3.18 Pente initiale de la courbe de saturation lumineuse faite sous une lumière sinusoïdale de période 120 s.

CHAPITRE IV

DISCUSSION

La photosynthèse avec ses nombreuses composantes et mécanismes de régulation peut être considérée comme un système complexe. Chaque système complexe lorsqu'il est soumis à un changement soudain d'une de ses conditions environnementales, tend à retrouver un nouvel état d'équilibre, proche de son état initial. Le retour à ce nouvel état d'équilibre se fait de façon oscillatoire : au début, ces oscillations sont fortes puis s'amortissent avec le temps (Rosnay, 1975). Ce comportement oscillatoire est aussi observé au cours de l'induction la photosynthèse chez des feuilles soudainement éclairées (Laisk, 1989; Walker 1992). Selon ces auteurs, plusieurs mécanismes contribuent à cette tendance oscillatoire dont l'étude permet de mieux comprendre la dynamique interne de la photosynthèse.

Plus récemment, Nedbal et Brezina (2002) ont introduit une méthode pour maintenir ces oscillations de la photosynthèse par l'utilisation de lumière incidente sinusoïdale. Ces auteurs ont montré des patrons complexes de fluorescence chlorophyllienne (FChl) sous des lumières sinusoïdales, composés d'une composante principale ayant la même fréquence que la lumière incidente ainsi que de nombreuses harmoniques. Ces dernières sont la manifestation de la résonnance du système photosynthétique, qu'ils ont attribué à des « interactions entre différents mécanismes de régulation ». Cette approche prometteuse est cependant demeurée descriptive et peu exploitée. Tout récemment, Bonin et al. (manuscrit en préparation) ont tenté de mieux comprendre ces oscillations en montrant chez des plants de tournesol que 1) les amplitudes de la CP et des harmoniques de la FChl augmentent avec les augmentations de l'amplitude de la lumière sinusoïdale, la période ayant des effets moins marqués; 2) les plants cultivés à l'extérieur résonnaient davantage (plus grandes amplitudes des harmoniques) que ceux cultivés à l'intérieur et 3) les amplitudes des harmoniques sont

corrélées aux variations du quenching non photochimique de la FChl (Y_{NPQ}) observées durant la période de lumière sinusoïdale.

Malgré les connaissances apportées par ces études précédentes, la signification physiologique de ces oscillations complexes de la FChl sous lumière sinusoïdale, notamment leur relation possible avec l'efficacité de l'assimilation de CO_2 sous lumière dynamique (sinusoïdale) demeurerait toujours à être démontrée. Les réponses à ces questions constituent les objectifs de ce mémoire, qui présente les variations de la FChl et de l'assimilation de CO_2 sous lumières sinusoïdales mesurées chez trois différentes espèces soumises à différentes conditions. Tout d'abord, nos résultats confirment la présence de patrons complexes de FChl (YNO) chez les trois espèces étudiées. L'analyse du signal de la fluorescence par la méthode des transformées rapides de Fourier nous a permis de constater qu'en plus de la composante principale (CP) il existe plusieurs harmoniques. Nos résultats démontrent que l'amplitude de la CP est inférieure chez les plantes d'extérieur par rapport à celle des plantes d'intérieur (Figure 3.2), tandis que l'inverse est observé pour la somme des harmoniques : celle-ci est supérieure chez les plantes d'extérieur (Figure 3.3). Ceci avait été rapporté par Bonin et al. (en préparation) chez le tournesol. Nous confirmons ici que cette différence s'observe chez deux autres espèces, la fève et le haricot.

Par nos différents résultats, nous pouvons attribuer la CP à la fermeture des centres réactionnels tandis que les harmoniques dépendent de la formation du NPQ. En effet, l'attribution de la CP à la fermeture des centres réactionnels est supportée premièrement par le fait que cette fermeture est un phénomène rapide (de l'ordre des ns à μ s), et suit donc directement la période d'oscillation de la lumière incidente. De plus, l'amplitude de la CP est inférieure chez les plants de l'extérieur à celle des plants de l'intérieur : les plantes de l'extérieur peuvent développer plus de NPQ (Katahata et al. 2005) que les plantes d'intérieur, résultant en une plus faible fermeture de centres réactionnels. Quant aux harmoniques, étant plus prononcées chez les plantes d'extérieur, elles peuvent donc être attribuées à la formation de NPQ (Katahata et al. 2005). Ces conclusions sont supportées par Nedbal et Brezina (2002) qui ont suggéré la présence des composantes

harmoniques dans le patron de fluorescence émises par des feuilles de tabac soumises à une lumière sinusoïdale comme étant le résultat d'un rétrocontrôle négatif non-linéaire de la photosynthèse (NPQ). De plus, Bonin et al. (manuscrit en préparation) ont observé une bonne corrélation entre la somme des harmoniques de YNO avec la variation de YNPQ induit sous lumières sinusoïdales de différentes périodes et amplitudes.

Ainsi, les oscillations de YNO sont la résultante de la fermeture des centres réactionnels (augmentant l'intensité de la FChl) et de l'induction du NPQ (diminuant l'intensité de la FChl). Les amplitudes de la CP et des harmoniques sont donc difficiles à interpréter. Par exemple, une augmentation de NPQ a un double effet, soit de favoriser l'apparition d'harmoniques et aussi bien sûr d'atténuer l'intensité de la FChl (et donc de diminuer les amplitudes de la CP et des harmoniques). Pour minimiser les effets opposés du NPQ, nous proposons le rapport $\frac{\Sigma H}{CP}$ comme le meilleur indicateur de résonances relatives de la photosynthèse, du moins de YNO.

Dans le but d'expliquer les patrons de fluorescence (YNO) ainsi que la différence de résonance entre les conditions de croissance, nous avons calculé les rendements quantiques des réactions photochimiques du PSII (YII) et du quenching non photochimique régulé (YNPQ) durant une période de lumière sinusoïdale. Les résultats montrent qu'au cours d'une période, pour toutes les plantes sauf pour la fève intérieure, YII et YNPQ ne varient pas tel qu'attendu selon les variations de l'intensité lumineuse : YII augmente pendant 36 s (0.3 de la période de 120 s) au début de la période lorsque l'intensité lumineuse augmente puis YII diminue et atteint son minimum vers 96 s (0.8 de la période, soit 36 s pendant que l'intensité lumineuse diminue). YNPQ est l'image miroir de YII, c.-à-d. diminue au début de la période (minimum atteint à 36 s de la période) et atteint son maximum à 0.8 de la période. Ces résultats montrent donc un décalage entre les variations attendues de YII et YNPQ qui diminuent et augmentent respectivement lorsque l'intensité lumineuse augmente, et vice versa (Klughammer et Schreiber 2008). Ce décalage indique un délai significatif entre l'induction (et la relaxation) de YNPQ et les variations de l'intensité lumineuse. Un tel décalage, quoique plus court (8 s) a récemment été observé dans des feuilles d'épinard par Joliot et Finazzi

(2010). Ces auteurs expliquaient ce phénomène par l'effet de la protonation de domaines spécifiques dans les antennes collectrices de lumière ainsi que par la lente diffusion de protons dans différents domaines des thylacoïdes. Dans nos conditions expérimentales, le long délai (36 s vs 8 s) pourrait être expliqué par la longue durée d'exposition sous lumière sinusoïdale (1 h 30) qui a chargé la feuille en métabolites énergétiques (ATP, NADPH, sucres,...) ce qui ralentit la dissipation du gradient de pH (plus faible besoin en ATP). Ainsi, la feuille a la difficulté à optimiser ses composantes photosynthétiques aux variations dynamiques de la lumière. Pour l'instant, nous ne pouvons pas expliquer le cas de la fève intérieur, où il y a absence apparente de décalage entre d'une part YII et YNPQ et d'autre part les variations de l'intensité lumineuse : dans ce cas, il n'y aurait pas de restrictions dans le fonctionnement dynamique interne de la photosynthèse.

Ces premiers résultats indiquent pour les trois espèces testées une plus grande résonance de YNO chez les plantes d'extérieur que chez les plantes d'intérieur. Ceci confirme donc les observations faites par Bonin et al. pour le tournesol. Pour voir la signification physiologique de ces résonances, nous avons comparé leurs amplitudes aux rendements quantiques de l'assimilation de CO₂ mesurée sous la lumière sinusoïdale versus la lumière continue. Les résultats ont montré que la lumière sinusoïdale est employée moins efficacement par rapport à une lumière continue d'une intensité équivalente, en moyenne de 79 %, et ce quelles que soient l'espèce et la condition de croissance. Donc les plantes cultivées à l'intérieur sous lumière continue (jour/nuit : 16 h/8 h) ont la même efficacité à utiliser la lumière dynamique relativement à la lumière continue que les plantes cultivées à l'extérieur (plein soleil). De plus, nos résultats indiquent que l'acclimatation à la lumière naturelle ne conférerait pas aux plantes une plus grande flexibilité, c.-à-d. une plus grande habileté à utiliser la lumière dynamique (sinusoïdale) que les plantes d'intérieur, du moins sous nos conditions expérimentales. Il se peut que des résultats différents aient pu être obtenus avec des plantes de sous-bois, où la lumière est plus dynamique qu'en plein soleil (Katahata et al. 2005). Donc, les amplitudes des résonances de YNO observées ne semblent pas être reliées à l'efficacité photochimique de l'assimilation de CO₂ sous lumière dynamique. Ceci est cohérent avec les résultats de Nedbal et al. (2003), qui ont montré l'absence

d'oscillation pour des taux d'assimilation de CO₂ mesurés sous lumière sinusoïdale (période de 300 s et une amplitude de 600 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$), tandis que la FChl montrait un patron complexe sous une telle lumière. Sur la base de ces différentes observations, nous pourrions suggérer que les résonances de YNO sont un phénomène limité au PSII. Considérant la photosynthèse comme un système complexe, ces effets au niveau du PSII seraient trop en amont par rapport à l'assimilation de CO₂, et seraient donc amortis dans la chaîne des composantes photosynthétiques allant des antennes des PSII jusqu'aux réactions biochimiques du cycle de Calvin.

Une autre façon de vérifier l'importance physiologique des oscillations de YNO sous lumières sinusoïdales a été de corrélérer leurs variations avec l'augmentation du taux d'assimilation de CO₂ lors de l'induction de la photosynthèse. Le phénomène d'induction est important pour les végétaux, car il leur permet de mieux performer dans leur environnement, c.-à-d. d'économiser leur ressource (eau) et stabiliser les enzymes du Cycle de Calvin lorsque les plantes sont à l'obscurité. Lorsque la plante passe de l'obscurité à lumière, il y a une activation progressive de la photosynthèse, c.-à-d. passant d'une inactivité à l'obscurité à une pleine activité après une période de plusieurs minutes. Ce phénomène se produit à la suite d'une ouverture lente des stomates et de l'activation des enzymes, causant ainsi l'augmentation du taux de photosynthèse. Durant cette induction, trois phases peuvent être distinguées (Urban et al. 2007) : (1) lors des premières 1 à 2 min de l'exposition de la feuille à la lumière incidente, il y a activation des enzymes impliquées dans le cycle de Calvin, plus spécifiquement dans la régénération du ribulose 1-5-biphosphate (Kirschbaum et Pearcy 1988), (2) l'activation de la Rubisco qui est responsable des réactions de carboxylation primaire : sa réactivation est considérée comme la principale limitation biochimique pendant la majeure partie de la période d'induction (Woodrow et Mott 1989; Mott et Woodrow 2000), (3) l'ouverture des stomates est l'étape la plus lente dans le processus d'induction photosynthétique (limitation stomatique) et peut prendre plus d'une heure pour arriver à induction complète (Kirschbaum et al. 1998; Allen et Pearcy 2000). De nombreux facteurs influencent l'induction de la photosynthèse. En effet, l'acclimatation des plantes à l'environnement de la croissance, en particulier à des faibles et fortes lumières conduit

à des changements biochimiques et anatomiques dans les feuilles et affecte le taux d'activation des enzymes (Naramoto et al. 2001). Il a été démontré que chez les espèces peu tolérantes à l'ombre, le temps d'induction est plus rapide chez les plantes acclimatées à l'ombre que celle des plantes de l'extérieur (plein soleil). Cela peut être dû d'une part à la conductance stomatique qui est plus rapide chez les plantes de l'intérieur et à la conductance biochimique (Cui et al. 2009). Selon Whitehead et Teskey (1995), la conductance stomatique augmente plus lentement que l'induction biochimique.

Étant donné que les plantes de l'intérieur ont une induction plus rapide que les plantes de l'extérieur et pour mieux comprendre l'aspect des oscillations de YNO, les amplitudes de la CP et des harmoniques ont été calculées tout au long de cette phase importante qu'est l'induction de la photosynthèse. Les résultats ont montré qu'au cours de l'induction, la CP diminue pour toutes les espèces cultivées à l'extérieur, tandis que le comportement de CP était variable pour les plantes d'intérieur. Au cours de l'induction, le NPQ augmente (Sui et al. 2011) donc il y a moins de signal de fluorescence. Cet effet atténuateur est la cause de la diminution de la CP. Les harmoniques aussi diminuent pour certaines espèces, tandis que pour d'autres, l'amplitude des harmoniques est stable ou même augmente légèrement. Ces différents comportements de l'amplitude des harmoniques indiquent une relation complexe entre cette amplitude des harmoniques et la formation de NPQ, tel que discuté plus haut.

Une troisième approche pour démontrer une possible signification physiologique des oscillations de YNO a été de tester les effets de différentes températures (10°, 25° et 40 °C) sur le taux de photosynthèse et sur les amplitudes des oscillations de YNO. Les résultats ont montré que par rapport à la température optimale de 25 °C, la température élevée (40 °C) a davantage diminué l'assimilation de CO₂ que la basse température (10 °C). Cette baisse du taux d'assimilation de CO₂ est causée, en partie, par une hausse de la photorespiration (Taiz et Zeiger 2002). L'étude menée par Law et Crafts-Brandner (1999) sur des feuilles de cotonnier et de blé a montré aussi qu'à des températures élevées (au-dessus de 25 °C), il existe une relation linéaire entre la baisse d'activation du Rubisco et la diminution de l'assimilation nette de CO₂. À basse température, il y a aussi

une baisse de l'assimilation du CO_2 . En effet, on peut expliquer ça par la diminution de l'activité des enzymes du cycle de Calvin lorsque la température s'abaisse : les réactions biochimiques dépendent fortement de la température (limitation de la photosynthèse due à la régénération du RuBP).

Le patron de fluorescence aussi est affecté par les différentes températures. En effet, ce patron semble plus complexe à 25 °C et moins complexe à 10 °C. Effectivement, la CP augmente fortement à 10 °C, d'où la perte de complexité du patron de fluorescence. À basse température, il y a limitation des réactions biochimiques de la photosynthèse ce qui, pour une même intensité lumineuse, augmente la pression d'excitation au niveau des photosystèmes (Huner et al. 1998). Il en résulte donc une plus grande proportion de centres réactionnels qui sont dans un état fermé, d'où l'augmentation de l'amplitude de la CP. Quant aux effets d'une température élevée, ceux-ci sont plus difficiles à interpréter. Par rapport au contrôle (25 °C), une température de 40 °C n'affecterait pas la fermeture des centres réactionnels (mêmes amplitudes des composantes principales à 25 °C et 40 °C) mais diminuerait l'activation de NPQ. En effet, la forte température pourrait augmenter suffisamment la fluidité membranaire, augmentant ainsi la perméabilité des thylacoïdes vis-à-vis les protons, empêchant la formation du ΔpH , donc la formation de NPQ et en dernière conséquence, celle des harmoniques. Une telle situation ne peut s'expliquer que par un ralentissement de l'activité du PSII qui est liée à celle de la chaîne de transfert d'électrons du PSII au PSI. Même si cette explication est incertaine, il semble le rapport $\frac{\Sigma H}{CP}$ soit un bon indicateur de résonances relatives du système, lié aux différents taux d'assimilation de CO_2 (Figures 3.12 et 3.13).

Dans le but de mieux comprendre l'efficacité de la photosynthèse sous lumière dynamique, on a étudié la variation du taux d'assimilation du CO_2 obtenu sous une lumière sinusoïdale de même amplitude ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mais de différentes périodes (de 5 s à 240 s). Nos résultats ont montré qu'il y a une perte d'efficacité de la photosynthèse (diminution du taux d'assimilation de CO_2) lorsque la période de la lumière sinusoïdale augmente (Figure 3.14). Cette diminution peut être expliquée, d'une

part, par l'effet du NPQ qui augmente avec les périodes des oscillations ce qui diminue l'efficacité et d'autre part, par la diminution du pouvoir réducteur.

Pour mieux expliquer l'importance de l'amplitude de la lumière sinusoïdale sur la diminution du taux d'assimilation de CO_2 , on a tracé les courbes de variation de ces taux obtenus chez des plantes soumises à des lumières sinusoïdales oscillant entre 13 et $1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (périodes 20 s et 120 s) et continue d'intensité équivalente (même quantité de photons). Nos résultats ont montré que la lumière continue reste toujours mieux utilisée que la lumière sinusoïdale (Figure 3.15), la photosynthèse étant moins efficace sous lumières sinusoïdales. Cette perte d'efficacité est plus marquée pour la période 120 s que 20 s, en accord avec nos résultats de la Figure 3.14. Cette perte d'efficacité avec l'augmentation de la période est cohérente avec une étude menée par Tennessen et al. (1995). Dans cette étude, ils ont remarqué que la période des pulses augmentait (plus longs pulses suivis de plus longues périodes d'obscurité), la photosynthèse nette diminue en comparaison avec celle obtenue sous une lumière continue de même quantité de photon. La perte d'efficacité photosynthétique avec l'augmentation de la période de la lumière pulsée ou sinusoïdale est cohérente avec l'idée d'une capacitance de la photosynthèse, c.-à-d. que les accepteurs d'électrons photosynthétique (pool de plastoquinones, NADPH, ...) peuvent stocker une certaine quantité d'énergie durant les périodes de fortes intensités lumineuses, cette énergie pouvant être utilisée durant les périodes de plus faible intensité lumineuse (Vejrazka et al. 2011). Il semble cependant que cette capacitance est plutôt limitée et devient saturée lorsque les périodes fortes intensités sont supérieures à quelques secondes maximum. On propose que ces oscillations rendent le système en déséquilibre ce qui diminue son efficacité.

CHAPITRE V

CONCLUSION

La photosynthèse est un processus complexe faisant intervenir de nombreux organites qui sont affectés de manière différente par les facteurs de l'environnement tels que la lumière (source d'énergie), le CO_2 (source de carbone) et la température... De ce fait, la photosynthèse peut être considérée comme un système complexe avec ses nombreuses composantes et mécanismes internes en interactions. Ces composantes sont en constantes interactions, menant à l'émergence de nouvelles propriétés minimisant les effets des changements environnementaux et évitant les dommages qui peuvent être causés par la photoinhibition. Les organismes photosynthétiques doivent optimiser leur rendement photosynthétique dans des environnements spatiotemporels hétérogènes. De ce fait, l'étude de la photosynthèse sous lumière dynamique demeure donc importante et nécessaire.

D'une part, d'après nos résultats, on a observé les plus faibles amplitudes de la composante principale (CP) sont chez les plantes d'extérieur comparées à celles des plantes de l'intérieur. Il y a aussi une baisse de l'amplitude de la CP au cours de l'induction de la photosynthèse, une hausse de l'amplitude de la CP lorsque la température diminue et enfin, une similitude entre la période de la CP et celle de la lumière sinusoïdale incidente. On peut suggérer, de ces résultats, que la CP correspond à la fermeture des centres réactionnels du photosystème II (PSII).

D'autre part, nos résultats ont montré que les plus fortes amplitudes des harmoniques sont chez les plantes d'extérieur comparées à celles des plantes d'intérieur. Aussi, sous nos conditions expérimentales, la lumière sinusoïdale est moins bien utilisée que la lumière continue pour l'assimilation de CO_2 , même pour les plantes d'extérieur acclimatées à la lumière naturelle (dynamique).

Malgré ces résultats, on n'a pu mettre en évidence un possible lien entre les oscillations complexes de fluorescence sous lumière sinusoïdale avec l'assimilation de CO_2 , ni en termes de capacité (A_{CO_2}) ou d'efficacité photosynthétiques. Ces résonnances sont amorties et deviennent non-significatives au niveau des réactions situées plus en aval vers les réactions biochimiques de la photosynthèse. Par conséquent, les oscillations complexes (résonnances) de fluorescence sous lumière sinusoïdale représentent un phénomène qui semble limité au PSII.

BIBLIOGRAPHIE

- Allen MT, Percy RW (2000) Stomatal versus biochemical limitations to dynamic photosynthetic performance in four tropical rainforest shrub species. *Oecologia* 122: 479-486.
- Alves PLCA, Magalhães ACN, Barja PR (2002) The phenomenon of photoinhibition of photosynthesis and its importance in reforestation, *Botanical review* 68:193-208.
- Cui X, Gu S, Wu J, Tang Y (2009) Photosynthetic response to dynamic changes of light and air humidity in two moss species from the Tibetan Plateau. *Ecological Research* 24: 645-653.
- Deming-Adams B, Gilmore A M et Adams III W (1996) In vivo functions of carotenoids in higher plants. *The FASEB Journal* 10: 403-412.
- Foyer C H, Furbank, Walker, D A (1990) Coregulation of electron transport and Benson-Calvin cycle activity in isolated spinach chloroplasts: Studies on glycerate 3-phosphate reduction. *Biochemistry and Biophysics* 268: 687-697.
- Genty B, Briantais J-M, Baker N R (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of fluorescence. *Biochimica Biophysica Acta* 990: 87-92.
- Govindjee W R, Govindjee (1974) The absorption of light in photosynthesis. *Scientific American journal* 231: 64-82.
- Hakala M, Tuominen I, Keranen M, Tyystjarvi T, Tyystjarvi E (2005) Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photo inhibition of Photo system II. *Biochimica Biophysica Acta* 1706: 68-80.
- Hendry G A F, Houghton J D, Brown S.B (1987) The degradation of chlorophyll - a biological enigma. *New Phytologist* 107:255-302.
- Horton H R, Moran L A, Ochs R S, Rawn J D, Scrimgeour K G (1994). *Principes de Biochimie* 2: 8041-1578.
- Horton, Peter, Alexander V, Ruban (2005) Regulation of Photosynthesis under Stress: Molecular design of the photosystem II light-harvesting antenna: photosynthesis and photoprotection. *Journal of Experimental Botany* 56: 365-373.

Hodges M, Comic G, Briantais J M (1989) Chlorophyll fluorescence from spinach leaves: Resolution of non-photochemical quenching. *Biochimica Biophysica Acta* 974: 289-293.

<http://biologie.univ-mrs.fr>

<http://fr.wikiversity.org/wiki/Photosynthèse>

<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Photosynthese-cours/11-PSI.htm>

http://www.vscht.cz/eds/knihy/uid_es-002/figures/chloroplast.01.jpg

Humphries S, Falkowski P G (1994). Photoinhibition of photosynthesis in nature *Plant Physiology* 45: 633-662.

Huner, N P A, Öquist G, Sarhan, F (1998) Energy balance and acclimation to light and cold. *Trends in Plant Science* 3: 224-230.

Joliot, PA, Finazzi G (2010) Proton equilibration in the chloroplast modulates multiphasic kinetics of non-photochemical quenching offluorescence in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(28): 127-133.

Katahata S, Naramoto M, Kakubari Y, Mukai Y (2005) Photosynthetic acclimation to dynamic changes in environmental conditions associated with deciduous overstory phenology in *Daphniphyllum humile*, an evergreen understory shrub. *Tree Physiology* 25(4): 437-445.

Kirschbaum M U F, Pearcy R W (1988) Gas exchange analysis of the relative importance of stomatal and biochemical factors in photosynthetic induction in *Alocasia macrorrhiza*. *Plant Physiology* 86: 782-785.

Kirschbaum M U F, Kupperts M, Schneider H, Giersch C, Noe S (1998) Modelling photosynthesis in fluctuating light with inclusion of stomatal conductance, biochemical activation and pools of key photosynthetic intermediates. *Planta* 204: 16-26.

Klughammer C, Schreiber U (2008). Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the saturation pulse method. *PAM Application Note* (2008) 27-35.

Knapp A K, Smith W K (1990) Stomatal and photosynthetic responses to variable sunlight *Physiology. Plant journal* 78: 160-165.

- Krause GH, Weis E (1984) Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology II interpretation of fluorescence signals. *Photosynthesis research* 5: 139-57.
- Kuppers M, Pfiz M (2009) Role of photosynthetic induction for daily and annual carbon gains of leaves and plant canopies. In *Photosynthesis in silico: understanding complexity from molecule to ecosystem* (Laisk, A., Nedbal, L. and Govindjee eds).
- Kurisu G, Zhang H, Smith J L, Cramer W A (2003) Structure of the cytochrome b_6f complex of oxygenic photosynthesis: tuning the cavity. *Science* 302: 1009-1014.
- Laisk A, Eichelmann H, Barber J et Schreiber U (1989) Towards Understanding Oscillations: A Mathematical Model of the Biochemistry of Photosynthesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 323: 369-384.
- Law DR, Crafts-Brandner SJ (1999) Inhibition and acclimation of photosynthesis to heat stress is closely correlated with activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Plant Physiology* 120: 173-181.
- Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Methods Enzymology* 148: 350-382.
- Malkin R, Niyogi KK (2000) Photosynthesis, in *Biochemistry and molecular biology of plants* American Society of Plant physiologists: 568-628.
- Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- Mott KA, Woodrow IE (2000) Modelling the role of Rubisco activase in limiting nonsteady-state photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 51: 399-406.
- Müller P, Xiao P L, Krishna K, Niyogi (2001) Update on Photosynthesis: Non-Photochemical Quenching. A Response to Excess Light Energy. *Plant Physiology* 125(4): 1558-1566.
- Mustardy L, Garab G (2003) Granum revisited. A three-dimensional model where things fall into place. *Trends Plant Science* (8): 117-122.
- Naramoto M, Han Q, Kakubari Y (2001) The influence of previous irradiance on photosynthetic induction in three species grown in the gap and understory of a *Fagus crenata* forest. *Photosynthetica* 39(4): 545-552.

- Nedbal L, Brezina V (2002) Complex metabolic oscillations in plants forced by harmonic irradiance. *Biophysical Journal* 83(4): 2180-2189.
- Nield J (1997) Structural Characterisation of Photosystem II. Ph. D. Thesis .University of London, London, UK.
- Nishiyama Y, Allakhverdiev S I, Murata N (2006) A new paradigm for the action of reactive oxygen species in photo inhibition of photo system II. *Biochimica Biophysica Acta* 1757: 742-749.
- Pearcy R.W (1990) Sunflecks and photosynthesis in plant canopies. *Plant Physiology* 41: 421-453.
- Pearcy R W Krall J P, Sassenrath-Cole G F (1996) Photosynthesis in fluctuating light environments. *Photosynthesis and the Environment*: 321-346.
- Powles S B (1984) Photoinhibition of Photosynthesis Induced by Visible Light. *Plant Physiology* 35: 15- 44.
- Quick W P, Stitt M (1989) An examination of factors contributing to non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in barley leaves. *Biochemical Biophysical Acta* (977): 287-296.
- Rascher X, Sun J, Wang S, Li W, Hu L, Meng F, Fan Y, Zhang Z (2011) Photosynthetic induction in leaves of two cucumber genotypes differing in sensitivity to low-light stress. *African Journal of Biotechnology* 10(12): 2238-2247.
- Rosnay J de (1975) *Le Macroscopie, vers une vision globale*.
- Smith W K, Knapp A K, Reiners W A (1989) Penumbral effects on sun- light penetration in plant communities. *Ecology* 70: 1603-1609.
- Sui X, Sun J, Wang S, Li W, Hu L, Meng F, Fan Y, Zhang Z (2011) Photosynthetic induction in leaves of two cucumber genotypes differing in sensitivity to low-light stress. *African Journal of Biotechnology* 10 (12): 2238-2247.
- Tennessen D, Raymond J, Thomas D (1995) Efficiency of photosynthesis in continuous and pulsed light emitting diode irradiation. *Photosynthesis Research* 44: 261-269.
- Tevini M, Hader DP (1987) *General Photobiology*. Pergamon Press, New York.
- Taiz L, Zeiger E (2002) *Plant Physiology*: Sinauer Associates Inc., USA.

- Urban O, Košvancová M, Marek M V, Lichtenthaler H K (2007) Induction of photosynthesis and importance of limitations during the induction phase in sun and shade leaves of five ecologically contrasting tree species from the temperate zone. *Tree Physiology* 27(8):1207-1215.
- Vejrazka, C, Janssen M, Streefland M, Wijffels RH (2011) Photosynthetic efficiency of *Chlamydomonas reinhardtii* in flashing light. *Biotechnology and Bioengineering* 108(12): 2905-2913.
- Walker D A (1992) Concerning oscillations. *Photosynthesis Research* 34(3): 387-395.
- Whitelegge J P, Zhang H, Aguilera, R, Taylor R M, Cramer W A (2002) Full subunit coverage liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry (LCMS+) of an oligomeric membrane protein: cytochrome b_6f complex from spinach and the cyanobacterium *Mastigocladus laminosus*, *Molecular and cellular proteomics* 10: 816-827.
- Whitmarsh J, Govindjee (1999) The photosynthetic process. *Concept in Photobiology Photosynthesis and Photomorphogenesis*.
- Whitehead D, Teskey RO (1995) Dynamic response of stomata to changing irradiance in loblolly pine (*Pinus taeda* L.), *Tree Physiology* 15: 245-251.
- Woodrow I E, Mott K A (1989) Rate limitation of non-steady-state photosynthesis by ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in spinach. *Australian Journal of Plant Physiology* 16: 487-500.